



**Sandra Sofia Simões
Pedrosa**

**Análise dos componentes do Azeite utilizando
Métodos Quimiométricos**



**Sandra Sofia Simões
Pedrosa**

**Análise dos componentes do Azeite utilizando
Métodos Quimiométricos**

Dissertação apresentada à Universidade de Aveiro para cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre em Biotecnologia Alimentar, realizada sob a orientação científica da Doutora Ivonne Delgadillo Giraldo, Professora Associada com Agregação do Departamento de Química da Universidade de Aveiro e do Doutor António de Sousa Barros, Investigador Auxiliar do Departamento de Química da Universidade de Aveiro.

*"O único lugar onde o sucesso vem antes do trabalho
é no dicionário"*

Albert Einstein

o júri

presidente

Prof^a Sílvia Maria da Rocha Simões Carriço (Presidente do Júri)
Professora auxiliar do Departamento de Química da Universidade de Aveiro

Prof.^a Ivonne Delgadillo Giraldo (Orientadora)
Professora associada com agregação do Departamento de Química da Universidade de Aveiro

Prof. Fernando Hermínio Ferreira Milheiro Nunes
Professor auxiliar do Departamento de Química da Universidade de Trás-os Montes e Alto Douro

Doutor António de Sousa Barros (Co-orientador)
Investigador auxiliar (equiparado) do Departamento de Química da Universidade de Aveiro

agradecimentos

À Professora Ivonne Delgadillo pela orientação dada, pelo apoio e por toda a ajuda na elaboração deste trabalho.

Ao Professor António Barros, pela oportunidade que me proporcionou de trabalhar com um tema que tanto me fascinou, a quimiometria, por todo o apoio prestado e por todos os conhecimentos que me transmitiu durante a realização deste trabalho.

Aos meus colegas de mestrado por toda a ajuda e apoio que sempre me deram.

Aos meus pais, namorado e amigos por todo o apoio e carinho.

palavras-chave

Azeite Virgem, Quimiometria, NIR, PLS, PCA, Composição Química

resumo

O objectivo deste trabalho é analisar os componentes do azeite virgem por Espectroscopia de Infravermelho Próximo (NIR) e tratamentos quimiométricos, tais como a PCA (Análise em Componentes Principais) e o PLS (Regressão por Mínimos Quadrados Parciais).

Para a realização deste trabalho foram utilizadas análises químicas do azeite virgem efectuadas no Laboratório de Estudos Técnicos do Instituto Superior de Agronomia e espectros NIR do mesmo azeite.

Foram preparados diversos conjuntos de dados e foram feitos diferentes pré-tratamentos de dados para avaliar o mais adequado na modelação.

A PCA foi utilizada para avaliar a distribuição das amostras e para detectar a possível presença de amostras atípicas. O PLS foi utilizado para estabelecer a relação entre os dados espectrais e a componente de interesse.

Com este trabalho conclui-se que o método NIR é muito prático, eficiente, rápido e apresenta a grande vantagem de não necessitar de pré-tratamento de amostra. Esta abordagem quando associada a uma análise quimiométrica revela ser uma metodologia rápida e eficaz em comparação como os métodos tradicionais de análise.

keywords

Olive oil, Chemometric, NIR, PLS, PCA, Chemical Composition

abstract

The aim of this study is to analyze the components of virgin olive oil using Near Infrared spectroscopy (NIR) and chemometric methods such as PCA (Principal Component Analysis) and PLS (Partial Least Squares Regression). For this work the results from the chemical analyses of virgin olive oil made by the Laboratory of Technical Studies from Institute of Agronomy were used. Several sets of data and different pre-treatment of data were made in order to evaluate the most appropriate modeling. The PCA was used to assess the distribution of the samples and to detect the possible presence of atypical samples. PLS was used to establish the relationship between spectral data and the component of interest. This work concluded that the NIR method is very practical, efficient, fast and has the great advantage of not requiring sample pre-treatment. This approach, when combined with a chemometric analysis reveals to be a rapid and effective method compared to traditional methods of analysis.

Índice

1. Introdução	3
1.1. O Azeite	3
1.2. Classificação do Azeite	4
1.3. Os azeites DOP	5
1.4. Benefícios para a saúde	7
1.5. Composição química	11
1.5.1. Fracção saponificável	11
1.5.1.1. Ácidos gordos e triacilgliceróis	12
1.5.1.2. Ceras	13
1.5.1.3. Mono e diacilgliceróis	14
1.5.1.4. Fosfolípidos	15
1.5.2. Fracção insaponificável	16
1.5.2.1. Hidrocarbonetos	16
1.5.2.2. Esteróis	17
1.5.2.3. Compostos fenólicos	20
1.5.2.4. Vitaminas e tocoferóis	21
1.5.2.5. Compostos voláteis	22
1.5.2.6. Pigmentos	23
1.6. Parâmetros de qualidade	24
1.7. Adulteração de azeites	25
1.8. NIR (Infravermelho Próximo)	26
1.9. Quimiometria	28
1.9.1. Análise em Componentes Principais (PCA)	30
1.9.2. Regressão por mínimos quadrados parciais (PLS)	31
1.9.3. Validação Cruzada Interna	32
2. Objectivos	34
3. Material e Métodos	35
3.1. Métodos de análise do azeite	36
3.1.1. Acidez	36
3.1.2. Ácidos gordos totais e isómeros <i>trans</i>	37
3.1.3. Esteróis totais, eritrodiol e uvaol	37
3.1.4. Índice de peróxidos	39
3.1.5. Análise espectrofotométrica no Ultra-Violeta	40
3.1.6. Ceras	40

4. Resultados e Discussão	42
4.1. Quantificação da Acidez	47
4.2. Quantificação do Índice de Peróxido	50
4.3. Quantificação do K_{232}	52
4.4. Quantificação do K_{270}	54
4.5. Quantificação do ΔK	56
4.6. Quantificação das Ceras	58
4.7. Quantificação do Campesterol	60
4.8. Quantificação do Estigmasterol	62
4.9. Quantificação do β -Sitosterol	64
4.10. Quantificação do Δ -7-Estigmastenol	66
4.11. Quantificação dos Esteróis Totais (mg/kg)	68
4.12. Quantificação do Eritrodiol + Uvaol	70
4.13. Quantificação do Ácido Mirístico	72
4.14. Quantificação do Ácido Palmítico	73
4.15. Quantificação do Ácido Palmitoléico	75
4.16. Quantificação do Ácido Heptadecanóico	77
4.17. Quantificação do Ácido Heptadecenóico	79
4.18. Quantificação do Ácido Estearico	81
4.19. Quantificação do Ácido Oléico	82
4.20. Quantificação do Ácido Linoléico	85
4.21. Quantificação do Linolénico	87
4.22. Quantificação do Ácido Araquídico	89
4.23. Quantificação do Ácido Eicosanóico	91
4.24. Quantificação do Ácido Beénico	93
4.25. Quantificação do Ácido Lignocérico	95
4.26. Quantificação do Isómeros Transoléicos	97
4.27. Quantificação do Isómeros Translinoléicos + Translinolénicos	99
4. Conclusão	101
5. Referências Bibliográficas	103

1.Introdução

1.1. O Azeite

A oliveira, *Olea europaea*, L., representa a única espécie da família das *Oleaceae* com fruto comestível, sendo considerada a árvore mais antiga cultivada pelo homem.

O azeite é o óleo extraído do fruto da oliveira com exclusão dos óleos obtidos através do uso de solventes ou de processos de reesterificação e de qualquer mistura com óleos de outra natureza. ^[1] Este forma-se durante o desenvolvimento e o amadurecimento da azeitona principalmente nas células da polpa, em pequenas gotículas revestidas por uma membrana protectora que servem como reserva energética para posterior germinação e crescimento de uma nova árvore.

Quando o azeite é processado a partir de frutos maduros, frescos e de boa qualidade, o seu aroma é incomparável e delicado. É o único de todos os óleos vegetais que pode ser consumido no estado virgem, sem qualquer processo de refinação, conservando assim todas as suas vitaminas e outros constituintes naturais importantes.

O azeite apareceu pela primeira vez na Ásia Ocidental e estendeu-se, rapidamente, por toda a região mediterrânica. Actualmente mais de 90% da colheita de azeitonas faz-se nesta região, sendo Itália, Espanha, Portugal e Grécia os países com maior produção. ^[2]

O processo de fabrico do azeite envolve, de uma forma geral, quatro fases: a apanha, a trituração, a batedura e a extracção.

A apanha é uma etapa importante que define a qualidade do produto final, pois durante o amadurecimento da azeitona ocorrem alterações na sua composição química que posteriormente se reflectem nas propriedades do azeite. Assim, quer-se uma azeitona sã, em estado de maturação óptimo e colhida directamente da árvore.

A trituração da azeitona tem como objectivo libertar os óleos armazenados nas gotículas da polpa, sendo seguida da batadura de forma que estas gotículas se unam em gotas maiores até constituírem uma fase líquida contínua.

Por fim, os constituintes líquidos e a pasta da azeitona são separados por prensagem ou centrifugação. Na primeira são usadas prensas sujeitas a uma elevada pressão que separam o azeite e a água da pasta sólida. O azeite é posteriormente separado da água por processos de decantação. A segunda é uma técnica recente, onde o movimento de rotação a alta velocidade permite separar o azeite das restantes partes. ^[3,4]

Após a extracção o azeite representa o sumo de azeitonas, que devem estar em perfeitas condições de maturação e que sejam provenientes de oliveiras sadias, cujo processamento tenha sido efectuado logo após a colheita para evitar a alteração das suas características. ^[3]

1.2. Classificação do Azeite

Antes de ser embalado o azeite é classificado segundo o Codex Alimentarium e o International Olive Council em diferentes categorias: ^[5]

- **Azeites virgens:** são os óleos obtidos do fruto da oliveira somente por processos mecânicos particularmente em condições térmicas, que não alterem o óleo, e que não tenha sido submetida a tratamentos para além da lavagem, decantação, centrifugação e filtração. Este divide-se em:

- **Azeite extra virgem:** é um azeite virgem com acidez, expressa em ácido oléico, inferior a 0,8%. Este tipo não sofre processos de refinamento sendo considerado de altíssima qualidade que pode ser vendido directamente ao consumidor.

- **Azeite virgem:** é um azeite virgem com acidez, expressa em ácido oléico, compreendido entre 0,8 e 2%. Apesar de ter uma qualidade inferior ao do extra virgem este tipo de azeite também pode ser vendido directamente ao consumidor.
- **Azeite lampante:** é um azeite virgem com acidez, expressa em ácido oléico, superior a 2%. Este tipo de azeite é impróprio para consumo.
- **Azeite refinado:** azeite obtido a partir de azeite virgem lampante por métodos de refinação. A sua acidez, expressa em ácido oléico, não pode exceder 0,3%. Neste tipo de azeite há perda parcial de antioxidantes relativamente ao azeite virgem, devido ao processo de refinamento a que este é submetido.
- **Azeite:** consiste na mistura de azeite virgem, apto para consumo humano, com azeite refinado. A sua acidez livre, expressa em ácido oléico, não pode exceder 1%.
- **Óleo de bagaço de azeitona refinado:** óleo obtido a partir do óleo de bagaço de azeitona cru por métodos de refinamento. A sua acidez não pode exceder os 0,3%.
- **Óleo de bagaço de azeitona:** consiste na mistura de óleo de bagaço de azeitona refinado com azeite virgem. A sua acidez total não pode exceder 1%.

1.3. Os azeites DOP

DOP é a abreviatura de Denominação de Origem Protegida que foi a forma administrativa achada mais conveniente para proteger os azeites virgens nacionais pela sua origem e, simultaneamente, valorizá-los comercialmente e qualitativamente.

Para um azeite poder ser considerado DOP tem que apresentar as características que constam do artigo 2º do regulamento (CEE) nº 2081/92, relativo à protecção das indicações geográficas e denominações de origem dos produtos agrícolas e dos géneros alimentícios e satisfazer as condições de um caderno de especificações, tal como é estipulado no artigo 6º do regulamento (CEE) nº 2082/92.

Os azeites DOP são originários de uma região geográfica delimitada, com solos e clima característicos, sendo produzidos apenas com azeitonas de certas variedades. As características qualitativas e tipicidade que os distinguem de outros azeites são também conferidos pelo saber fazer tradicional da região no modo de condução das árvores, apanha da azeitona e extracção do azeite.

Actualmente, existem seis regiões DOP em Portugal: Moura, Trás-os-Montes, Beira Interior, Norte Alentejano, Alentejo Interior e Ribatejo.

As principais regiões produtoras de azeite são Trás-os-Montes, Alentejo e Beira Interior.

A variedade de azeitona predominante em Portugal é a Galega, que corresponde a cerca de 80% do total de oliveiras plantadas. Esta variedade encontra-se em todo o país, com uma maior presença nas regiões do Ribatejo, Beira Interior e Alentejo. ^[6]

As características dos azeites DOP variam com a região. Em Trás-os-Montes, as azeitonas são das variedades Verdeal, Madural, Cobrançosa e Negrinha do Freixo, dando origem a azeites equilibrados com cheiro e sabor a fruto fresco, por vezes amendoado. Também está presente uma notável sensação de verde, amargo e picante.

Os azeites da Beira Interior, de cor amarela clara e levemente esverdeada, têm sabor a fruto fresco e são bastante suaves, sendo produzidos com azeitonas das variedades Galega, Carrasquenha e Cobrançosa, entre outras.

Nos azeites de Moura predominam as variedades Verdeal, Cordovil e Galega, originando azeites com acidez baixa, cor amarelo-esverdeada, com aroma e sabor frutado, amargo e picante.

Nos azeites do Alentejo Interior são utilizadas azeitonas das variedades Galega, Cordovil de Serpa e Cobrançosa, entre outras. O azeite resultante tem cor amarelo dourada ou esverdeada, aroma frutado suave de azeitona madura e/ou verde e de outros frutos, tais como maçã ou figo e origina uma grande sensação de doce.

Os azeites do Norte Alentejano são produzidos com azeitonas das variedades Galega, Blanqueta, Cobrançosa, Azeiteira, Carrasquenha e Redondil. São frutados e ligeiramente espessos, com acidez baixa ou muito baixa, cor amarelo ouro, por vezes esverdeada, com aroma e sabor suave.

Nos azeites do Ribatejo predominam as azeitonas das variedades Galega e Cobrançosa, sendo semelhantes aos do Norte Alentejo em cor e textura. O seu sabor é marcadamente doce e suave. ^[6]

Segundo as leis da União Europeia, apenas 85 áreas geográficas podem utilizar a denominação DOP nos rótulos dos seus azeites. Estas encontram-se espalhadas pela Europa, sendo 15 delas na Grécia, 10 em Espanha, 7 em França, 37 em Itália, 1 na Eslovénia e 6 em Portugal. ^[7]

A produção de azeite DOP tem vindo a aumentar nas últimas décadas em Portugal, representando actualmente cerca de 4% da produção nacional de azeite virgem. ^[8]

1.4. Benefícios para a saúde

O azeite é um ingrediente fundamental na dieta mediterrânica, devido às suas características únicas que se adaptam a diversos gostos e utilizações e aos vários benefícios para a saúde. A elevada procura pelos consumidores levou a um incremento da venda de azeite e a um aumento consequente da produção e cultivo da azeitona ao longo do tempo.

Apesar de ser usado na culinária desde há séculos, o azeite tem sido, mais recentemente, alvo de uma intensa investigação científica com vista a determinar informação mais precisa acerca dos benefícios deste alimento para a saúde humana. ^[9]

A dieta mediterrânica pode ser definida como um modelo de regime alimentar dado a conhecer nas áreas olivícolas da região do Mediterrâneo, entre o final dos anos 50 e início dos 60. A dieta baseava-se em oito princípios: ^[10]

- Elevada razão lípidos monoinsaturados/saturados (promovido pelo consumo de azeite como fonte principal de gordura);
- Consumo moderado de etanol;
- Elevado consumo de cereais, incluindo pão;
- Elevado consumo de frutas;
- Elevado consumo de legumes e verduras;
- Baixo consumo de carne e de produtos cárneos;
- Consumo de proteína animal na forma de pescado;
- Consumo moderado de leite e de lacticínios.

Desde cedo, dados estatísticos demonstraram que a taxa de mortalidade pelas doenças cardiovasculares nas regiões mediterrânicas era, em geral, mais baixa do que nos países do norte da Europa e da América, realçando o contributo da dieta mediterrânica para o benefício da saúde humana. ^[11]

O modelo inicial da dieta, que já apresentava algumas diferenças conforme o país, tem sofrido alterações ao longo do tempo. Hoje em dia, a dieta mediterrânica pode ser encarada como uma recomendação nutricional inspirada nos tradicionais padrões dietéticos da região do Mediterrâneo.

Através da investigação realizada, desde a década de 50, acerca da qualidade nutritiva e salutar do azeite, sabe-se que os benefícios que derivam do seu consumo devem-se essencialmente à sua composição em ácidos gordos, caracterizada pela elevada percentagem em ácido oléico, e à presença de antioxidantes naturais, como os tocoferóis e os compostos fenólicos.

Estudos comprovam que o ácido oléico, do tipo monoinsaturado, contribui para a diminuição do colesterol LDL (Low-density lipoprotein) e para a manutenção, ou até aumento, do colesterol HDL (High-density lipoprotein). O colesterol LDL, isto é, o colesterol transportado por lipoproteínas de baixa densidade, tem um papel nocivo ao aumentar o risco de desenvolvimento de placas nas artérias, contribuindo para o processo de aterosclerose. Já o colesterol HDL, transportado por lipoproteínas de alta densidade, tem uma função protectora ao retirar das artérias fragmentos de colesterol, transportando-o para o fígado.^[12]

Por outro lado, as gorduras saturadas, cuja concentração no azeite é relativamente baixa, aumentam o colesterol LDL e diminuem o HDL. Quanto aos ácidos gordos polinsaturados, como o linoléico e o linolénico, o seu consumo diminui o LDL, mas, quando usados em grandes quantidades, podem reduzir também o HDL. Já os ácidos gordos *trans* provocam o aumento dos níveis de colesterol total no sangue e de LDL, mas reduzem os níveis de HDL.^[13]

O azeite é considerado uma gordura ideal porque, para além de aumentar o teor de colesterol HDL, contribuindo assim para uma diminuição do risco de doenças cardiovasculares, promove também a redução dos níveis de glicémia, tendo, no entanto, as mesmas calorias que outras gorduras. Estudos indicam que a introdução de gorduras monoinsaturadas, como o azeite, na dieta do diabético permite a redução da proporção de hidratos de carbono, sem aumentar, e até reduzindo, o risco de complicações cardiovasculares.^[14]

As propriedades antioxidantes do azeite também parecem desempenhar um papel importante na prevenção das doenças cardiovasculares, uma vez que as modificações oxidativas das LDL, relacionadas com a oxidação dos ácidos gordos polinsaturados, constituem uma etapa fundamental no aparecimento da aterosclerose.

Relativamente ao aparelho digestivo, o azeite parece ser o óleo mais bem tolerado pelo estômago devido ao elevado teor em monoinsaturados. Mostra ainda efeitos benéficos nas gastrites hiperclorídicas e na úlcera gastroduodenal, aumentando a secreção alcalina no intestino delgado mas não no estômago, reduzindo as lesões, contribuindo para a cicatrização das úlceras, e oferecendo uma melhoria da hipersecreção ácida e da hipermotilidade intestinal.^[14]

O azeite também ajuda a aliviar a prisão de ventre devido à falta de tonos muscular, tendo um efeito laxante que conduz à contracção da vesícula biliar e à activação dos movimentos peristálticos do intestino delgado. Actua favoravelmente contra a atonia da vesícula biliar e sobre a disfunção das vias biliares, aumenta o poder de desintoxicação do fígado e contribui para a melhoria da fase posterior da digestão, ao proporcionar uma acção mais eficaz da bÍlis na emulsão das gorduras.

Relativamente à infância, sabe-se que os ácidos gordos polinsaturados, tais como o linoléico e o linolénico, são essenciais do ponto de vista metabólico para os bebés e continuam a sê-lo durante o período de crescimento das crianças. O azeite proporciona uma relação linoléico /linolénico semelhante à da gordura do leite materno. Além disso, o ácido oléico tem uma acção positiva no crescimento, na mineralização e no desenvolvimento dos ossos. ^[14]

Para o envelhecimento é também recomendado o consumo de azeite, principalmente de azeite virgem, graças ao mecanismo de defesa dos agentes antioxidantes existentes no azeite virgem. Como já foi referido, os antioxidantes comportam-se como sequestradores de radicais livres. Actualmente, sabe-se que os danos causados pelos radicais livres estão relacionados com trocas celulares e extracelulares que ocorrem com o tempo no processo de envelhecimento, nas doenças crónicas e nas coronárias. ^[15]

O efeito positivo do azeite, especificamente dos seus oleatos e ácidos gordos essenciais, na mineralização dos ossos é eficaz também na idade adulta, limitando a perda de cálcio devido ao envelhecimento.

O azeite reúne ainda as melhores características de digestibilidade e de poder de absorção de nutrientes, qualificando-se como uma gordura privilegiada no envelhecimento, fase em que é normal ocorrer uma redução da capacidade digestiva e de absorção de vitaminas e sais minerais. Além disso, a sua acção laxante pode ser bastante útil nesta fase da vida. ^[14]

A incidência de alguns tipos de cancro e a mortalidade ocasionada pelos mesmos são mais baixas nos países mediterrânicos. Vários estudos experimentais demonstram que no azeite não estão presentes os efeitos que favorecem o cancro, observados na maioria das gorduras. No entanto, é difícil afirmar que este papel favorável da dieta mediterrânica se deva ao consumo de azeite em si. Em contrapartida, está provada a influência desfavorável no aparecimento de alguns tipos de cancro de outras gorduras alimentares, em particular as saturadas e, segundo outros estudos, as polinsaturadas.^[15]

1.5. Composição química

A composição exacta do azeite depende de factores agronómicos, tais como rega, fertilização, poda, práticas de protecção e produção integrada, colheita, transporte e armazenamento da azeitona, de factores geográficos e climáticos, da variedade e do estado de maturação da azeitona, de factores relacionados com a extracção, como o método usado e o tipo de equipamentos, e das condições de armazenamento e transporte do azeite.

Quimicamente, o azeite é constituído por duas fracções: uma saponificável e outra insaponificável.^[15]

1.5.1. Fracção saponificável

A fracção saponificável representa cerca de 99% da constituição do azeite. Inclui triacilgliceróis, ácidos gordos livres, e componentes menores como os fosfolípidos e glicósidos.

1.5.1.1. Ácidos gordos e triacilgliceróis

Os ácidos gordos são moléculas cuja estrutura apresenta uma cadeia alquílica, saturada ou insaturada, ligada a um grupo carboxílico, tal como mostra a figura 1.



Figura 1: Estrutura do ácido palmítico ^[2]

Nos óleos e gorduras naturais essa cadeia é, genericamente, linear e, no caso dos ácidos gordos insaturados, apresenta-se na forma *cis*.

Do total de ácidos gordos presentes no azeite, entre 53 a 87% correspondem a monoinsaturados, constituindo a principal característica do azeite, 4 a 20% a polinsaturados e 5 a 15% de saturados.

Tabela 1: Ácidos gordos existentes no azeite e respectiva proporção ^[1,16]

Ácido gordo	Designação abreviada	Proporção (%)
Ácido láurico	(C 12:0)	Vestígios
Ácido mirístico	(C 14:0)	<0.05
Ácido palmítico	(C 16:0)	7.5 - 20.0
Ácido palmitoléico	(C 16:1)	0.3 - 3.5
Ácido heptadecanóico	(C 17:0)	<0.3
Ácido heptadecenóico	(C 17:1)	<0.3
Ácido esteárico	(C 18:0)	0.5 - 5.0
Ácido oléico	(C 18:1)	55.0 - 83.0
Ácido linoléico	(C 18:2)	3.5 - 21.0
Ácido linolénico	(C 18:3)	<1
Ácido araquídico	(C 20:0)	<0.6
Ácido beénico	(C 22:0)	<0.2
Ácido erucico	(C 22:1)	Vestígios
Ácido lignocérico	(C 24:0)	<0.2

O ácido oléico é o ácido gordo encontrado em maior quantidade, representando 55 a 83% do total dos ácidos gordos do azeite. De seguida vem o ácido linoléico, representando 7,5 a 20% do total de ácidos gordos, que tal como o ácido linolénico são ácidos gordos essenciais. Estes não são sintetizados pelo organismo e são essenciais à vida e à saúde humana, tendo por isso de fazer parte da dieta. ^[2,4]

A maioria dos ácidos gordos existentes no azeite encontra-se esterificada na forma de triacilgliceróis. Estes compostos lipídicos são formados por três ácidos gordos ligados a uma molécula de glicerol, através de reacções de esterificação.

Atendendo ao número de ácidos gordos presentes no azeite, existem inúmeras combinações possíveis para triacilgliceróis. No entanto, nem todos podem ser encontrados neste óleo vegetal, já que alguns existem em quantidades desprezáveis e outros nem sequer estão presentes.

Existe uma menor percentagem de ácidos gordos que se encontram na forma livre, provenientes de reacções de hidrólise dos triacilgliceróis, sendo responsáveis pelo grau de acidez livre do azeite. Más condições de armazenamento da azeitona, por exemplo, podem resultar num aumento considerável da acidez livre do azeite, em detrimento da sua qualidade. ^[15]

1.5.1.2. Ceras

As ceras são álcoois de longa cadeia esterificados com ácidos gordos, também de cadeia longa. Na figura 2 está presente um exemplo de uma Cera, o Ceril Cerotato.

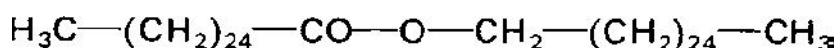


Figura 2 : Exemplo de uma Cera (Ceril Cerotato) ^[2]

A qualidade e a estabilidade do azeite e de todos os outros óleos vegetais, são influenciadas pela presença de ceras. Estas são lipossolúveis a altas temperaturas, contudo tendem a cristalizar a temperaturas mais baixas, o que causa turbidez quando o azeite é arrefecido. ^[2,20]

O teor de ceras no azeite é, normalmente, muito baixo, tendo um limite máximo estabelecido de 350 mg/kg de azeite. ^[21]

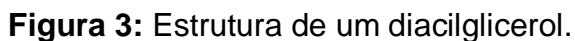
Na tabela 2 pode ver-se a quantidade de ceras permitida nos diferentes tipos de azeite.

Tabela 2: Quantidade de ceras nos diferentes tipos de azeite. ^[16]

Tipo de azeite	Ceras (mg/kg)
Virgem extra	≤ 250
Virgem	≤ 250
Lampante	≤ 300
Refinado	≤ 350
Azeite	≤ 350
Óleo de bagaço de azeitona refinado	> 350
Óleo de bagaço de azeitona	> 350

1.5.1.3. Mono e diacilgliceróis

A presença de mono e diacilgliceróis no azeite está relacionada não apenas com a biossíntese incompleta de triacilgliceróis, mas principalmente, com a ocorrência de reacções de hidrólise. ^[17]



1.5.1.4. Fosfolípidos

CCCCCCCCCCCCCCCC(=O)OCC(=O)OCCOP(=O)([O-])OCC[NH3+]

Fosfoglicérido (Fosfatidiletanolamina)

Figura 4: Estrutura de um fosfoglicérido.

15

1.5.2. Fracção insaponificável

A fracção insaponificável, encontra-se numa concentração muito menor no azeite, representando, no azeite virgem, entre 0,5 e 1,5% do total. No entanto, esta fracção é a principal responsável pelo valor biológico e nutricional do azeite, pelas características organolépticas e, ainda, pela sua resistência à oxidação. ^[15]

A composição da fracção insaponificável inclui a maioria dos constituintes menores do azeite, tais como, hidrocarbonetos, tocoferóis, esteróis, álcoois gordos, compostos fenólicos, compostos voláteis e pigmentos. ^[2,4]

1.5.2.1. Hidrocarbonetos

Os hidrocarbonetos são os constituintes principais da fracção insaponificável.

São encontrados hidrocarbonetos terpénicos como os monoterpenos (C_{10}), sesquiterpenos (C_{15}), diterpenos (C_{20}), triterpenos (C_{30}) e tetraterpenos (C_{40}).

Os terpenos são compostos derivados de um hidrocarboneto insaturado com cinco carbonos, o isopreno, tendo assim, sempre um número de carbonos múltiplo de cinco. Estes compostos resultam da associação de várias unidades isoprénicas de C_5 , na forma de isopentenilpirofosfato que é a forma activa do isopreno, sendo obtidas pela via do mevalonato ou por outra via independente da do mevalonato – a via do deoxixilulose fosfato. ^[18,19]

O esqualeno e os carotenóides são derivados terpénicos presentes no azeite.

O esqualeno, representado na figura 5, é um triterpeno e é o hidrocarboneto que está em maior quantidade no azeite. ^[2,4]

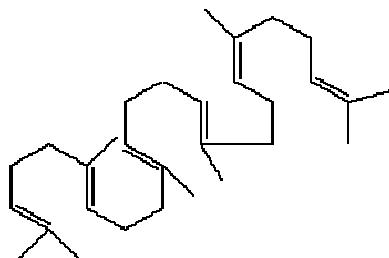


Figura 5: Estrutura do esqualeno.

Os carotenóides são tetraterpenos com um número elevado de duplas ligações que conferem aos alimentos de origem vegetal cores que vão do amarelo ao vermelho. Os carotenóides maioritários no azeite são o β -caroteno e a luteína.

Para além de contribuírem para a cor, os carotenóides contribuem para a estabilidade do azeite protegendo-o da foto-oxidação, por inibição da acção dos radicais oxigenados. Estão ainda associados ao valor nutricional do azeite por serem precursores da vitamina A. [2,4,18]

1.5.2.2. Esteróis

Os esteróis representam cerca de 15% da fracção insaponificável do azeite, podendo estar presentes como esteróis livres ou esterificados com ácidos gordos.^[4]

Estes compostos pertencem à classe dos esteróides, que são constituídos por um núcleo esteróide resultante da fusão de quatro anéis de hidrocarbonetos, denominado ciclopentanoperidrofenantreno, e uma cadeia lateral ligada ao núcleo esteróide no carbono 17, figura 6.

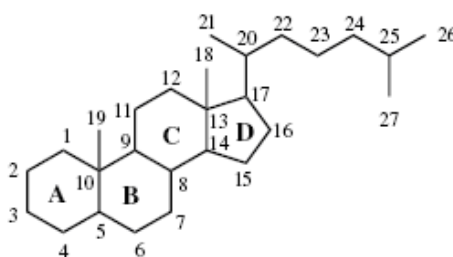


Figura 6: Fórmula geral dos esteróides.

Os esteróis contêm um grupo hidroxilo no carbono 3 e podem possuir uma cadeia formada por 27 a 29 átomos. No caso específico das plantas estes são denominados por fitosteróis e a sua maioria é caracterizada por terem um ou dois carbonos extra na cadeia lateral, ligado ao carbono na posição 24. Os vários

esteróis diferem entre si pela presença de duplas ligações nos anéis A e B, e por diferenças na cadeia lateral, em número de carbonos ou presença de duplas ligações. ^[19,20]

A biossíntese de esteróis é feita a partir do esqualeno, que após uma reacção de epoxidação dá origem ao 2,3-epoxiesqualeno. Este cicliza formando quatro anéis e origina o cicloartenol, figura 7. ^[19,20]

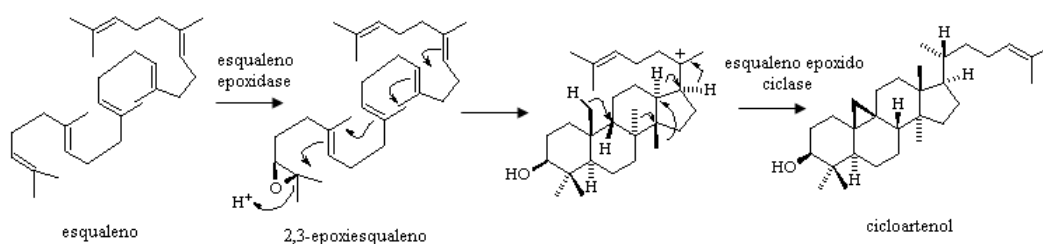


Figura 7: Ciclização do esqualeno a cicloartenol.

A formação dos diferentes esteróis a partir do cicloartenol dá-se por reacções, como a alquilação da cadeia lateral no carbono 24, a remoção dos grupos metilo dos carbonos 4 e 14 e a formação de duplas ligações.

Existe uma grande diversidade de esteróis presentes no azeite, nomeadamente o colesterol, o brassicasterol, o 24-metilenocolesterol, o campesterol, o campestanol, o estigmasterol, o Δ -5,23-estigmasdienol, o cleroesterol, o β -sitosterol, o sitostanol, o Δ -5-avenasterol, o Δ -5,24-estigmastadienol, o Δ -7-estigmastenol e o Δ -7-avenasterol. A estrutura destes compostos está representada na figura 4.

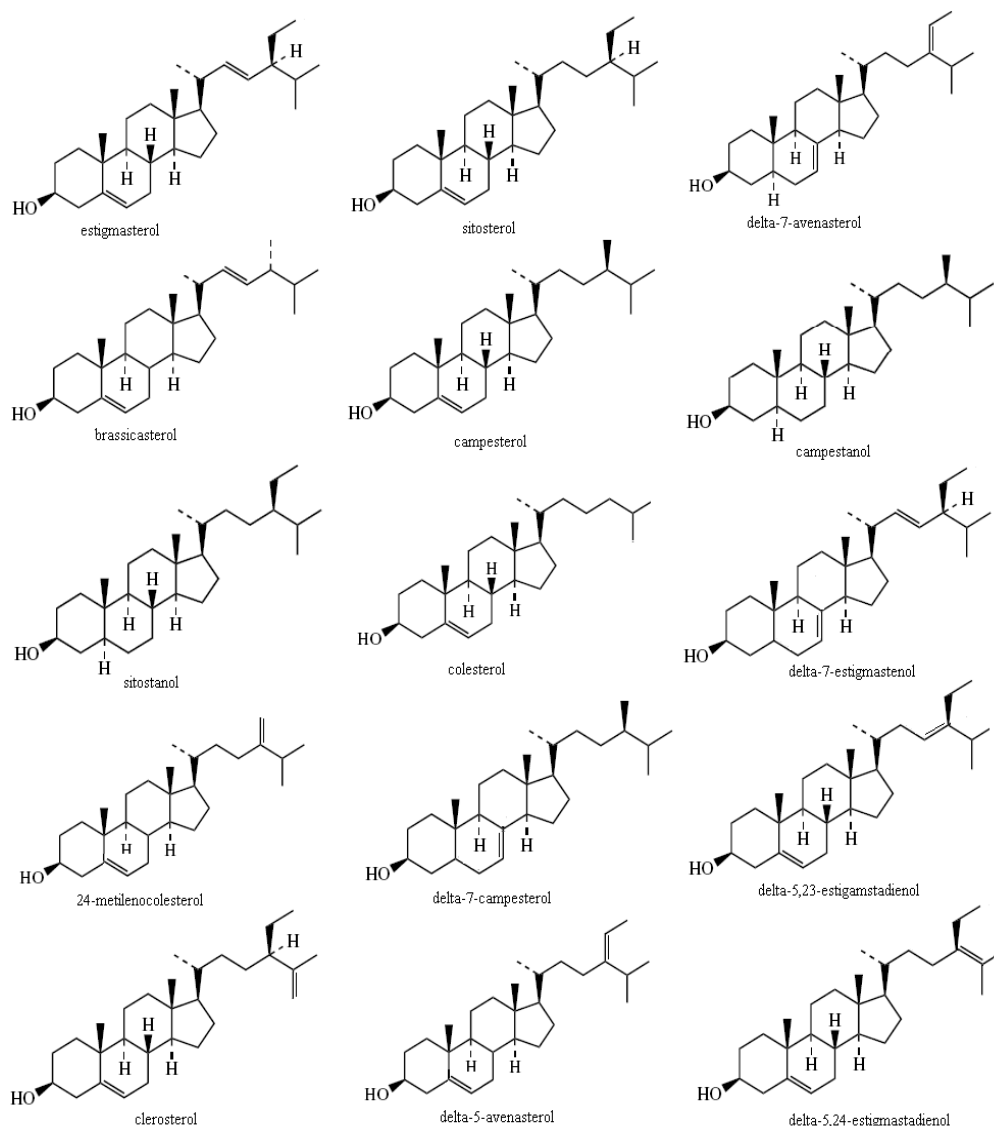


Figura 8: Estrutura química dos esteróis presentes no azeite.^[20]

O esterol que se encontra em maior quantidade no azeite é o sitosterol, representando 50 a 80% do total de esteróis. O estigmasterol, o campesterol e o delta-5-avenasterol também são encontrados em níveis significativos, estando os restantes esteróis presentes no azeite em concentrações relativamente baixas.

Este é o caso do colesterol que se encontra em quantidades tão baixas que normalmente, não apenas no azeite mas todos os produtos de origem vegetal, os produtos são considerados sem colesterol.

Na tabela 3 pode ver-se a percentagem de cada um dos diferentes esteróis presente no azeite, sendo que a percentagem de sitosterol corresponde à soma

das percentagens parciais do β -sitosterol, do Δ -5-avenasterol, do Δ -5-23-estigmastadienol, do clerosterol, do sitostanol e do Δ -5-24-estigmastadienol.

Tabela 3: Proporção de esteróis presentes no azeite ^[16]

Esterol	Proporção (%)
Colesterol	$\leq 0,5$
Brassicasterol	$\leq 0,2$ para os óleos de bagaço $\leq 0,1$ para os outros tipos
Campesterol	$\leq 0,4$
Estigmasterol	$<$ campesterol
β -sitosterol	$\geq 93,0$
Delta-7-estigmastenol	$\leq 0,4$

1.5.2.3. Compostos fenólicos

De uma forma geral, pode dizer-se que o azeite é praticamente o único óleo vegetal com quantidades apreciáveis de compostos fenólicos naturais, que lhe conferem o gosto amargo e frutado e que contribuem, em grande parte, para a sua resistência à auto-oxidação.

A composição fenólica do azeite é muito complexa e nem todos os seus componentes estão identificados. No entanto, numerosos antioxidantes fenólicos, simples e complexos, têm sido identificados na fracção polar de azeites virgem extra. No caso dos azeites refinados, o seu teor fenólico não é significativo.

As técnicas utilizadas nos processos de trituração da azeitona e de extracção do azeite provocam a eliminação de grande parte dos fenóis existentes no fruto (os de maior polaridade e pouco solúveis em óleo), e ainda promovem a activação de enzimas responsáveis pela hidrólise dos fenóis complexos.

Os três compostos fenólicos com a concentração mais elevada no azeite são a oleuropeína, o hidroxitirosol (3,4-dihidroxifenil etanol) e o tirosol.

A oleuropeína é o principal composto fenólico da azeitona, sendo responsável pelo amargo das azeitonas verdes. Quimicamente, trata-se de um glucósido do ácido elenólico, esterificado com o hidroxitirosol.

Ao longo da maturação do fruto, ou durante a produção do azeite, dão-se reacções de oxidação e de hidrólise dos compostos fenólicos mais complexos, como a oleuropeína.

Como tal, as substâncias fenólicas encontradas no azeite serão diferentes das que constituem o fruto. A oleuropeína, por exemplo, liberta hidroxitirosol.

Outros compostos fenólicos que, frequentemente, se encontram no azeite são os ácidos cafeico, vanílico, sirínico, p-cumárico, o-cumárico, protocatéquico, sinápico, p-hidroxibenzóico, p-hidroxifenilacético e homovanílico.^[15]

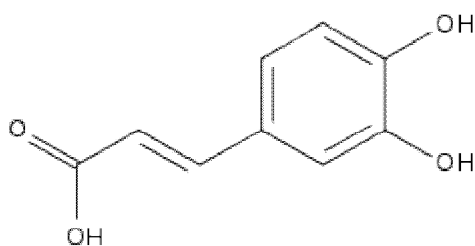


Figura 9: Exemplo de um composto fenólico, o ácido cafeico.

1.5.2.4. Vitaminas e tocoferóis

As vitaminas presentes no azeite são as vitaminas lipossolúveis, ou seja, a vitamina A, a vitamina E, a vitamina K e a vitamina D.

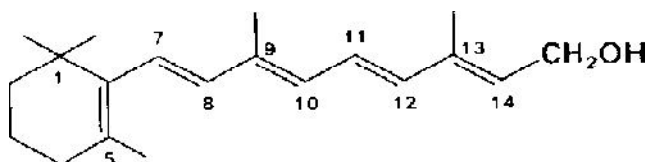


Figura 10: Estrutura da Vitamina A (Retinol)^[2]

Os tocoferóis são compostos fenólicos lipofílicos de origem vegetal e têm um papel biológico benéfico como antioxidantes. O α -tocoferol e o γ -tocoferol são os dois tipos de tocoferóis existentes em maior concentração no azeite, apresentando características de vitamina E e de antioxidantes. Como antioxidantes estes compostos previnem ou retardam a oxidação lipídica e aumentam a estabilidade do produto final. [2,4,20]

A composição em tocoferóis depende muito da variedade da azeitona e do período de colheita, alcançando o seu teor máximo durante o primeiro período de colheita. A concentração de tocoferóis no azeite oscila entre 5 e 300 mg/kg de azeite e, de um modo geral, nos azeites de boa qualidade o valor supera os 100 mg/kg de azeite. [15]

1.5.2.5. Compostos voláteis

Os compostos voláteis do azeite, que contribuem para o seu cheiro e o seu *flavour* único, desenvolvem-se durante e após a extracção. A sua formação dá-se, essencialmente, nos cloroplastos, durante a moenda da azeitona. Estes compostos tornam-se menos dominantes durante o armazenamento do azeite, surgindo novos compostos voláteis resultantes de reacções de oxidação.

De uma forma geral, a composição volátil do azeite é influenciada por factores geográficos, pela variedade da azeitona e o seu grau de maturação aquando da colheita, e pelo método e condições de processamento do azeite.

Os compostos voláteis presentes no azeite já foram extensamente estudados por vários investigadores, tendo sido identificados mais de 100, entre eles hidrocarbonetos, álcoois, aldeídos, ésteres, fenóis e seus derivados, terpenos oxidados e derivados do furano. Os principais compostos voláteis identificados no azeite são os de 5 e 6 átomos de carbono.

Os compostos voláteis não contribuem de forma equitativa para o cheiro do azeite, e os de concentração mais elevada não são necessariamente os que contribuem mais para esta característica. [15]

A cor do azeite, um dos atributos básicos para avaliar a sua qualidade, é determinada pelos pigmentos existentes na sua composição. O azeite contém dois tipos de pigmentos: as clorofilas e os carotenóides.

The chemical structure shows a central magnesium atom (Mg) coordinated by four nitrogen atoms in a porphyrin-like ring. The ring is substituted with various side chains, including a long phytyl chain, a vinyl group, and a methyl ester group. The structure is labeled with Roman numerals I, II, III, IV, and V, indicating different regions or substituents.

A fracção clorofilina, que representa entre 1 a 10 mg/kg de azeite, é constituída por 20 a 40% de feofitina a. O processo de extracção do azeite influencia o conteúdo clorofilino do mesmo, promovendo a transformação das clorofilas em feofitinas.

23

1.6. Parâmetros de qualidade

A qualidade do azeite é avaliada na base de quatro parâmetros: grau de acidez, índice de peróxidos, absorvência no ultravioleta e análise sensorial.

O grau de acidez é a medida da quantidade de ácidos gordos livres, expressa em ácido oléico. Trata-se de um parâmetro negativo, pois a partir de certos limites (até 2%), o azeite deixa de ser apto para consumo imediato e tem de ser refinado.

O índice de peróxidos (IP) mede o estado de oxidação inicial do azeite e, também, indica a deterioração que podem ter sofrido certos componentes de interesse nutricional, como a vitamina E. O seu limite de consumo corresponde a 20 meq O₂/kg de azeite.

A absorvência no ultravioleta utiliza-se em especial para detectar os compostos oxidados anormais num azeite virgem. ^[12]

Os valores dos coeficientes específicos K₂₇₀, K₂₃₂ e ΔK são utilizados para avaliar a autenticidade e a qualidade do azeite, sendo o K₂₇₀ o coeficiente de extinção específica a 270 nm, o K₂₃₂ o coeficiente de extinção específica a 232 nm e o ΔK determinado da seguinte forma:

$$\Delta K = K_m - \frac{K_{m-4} + K_{m+4}}{2}$$

Onde K_m corresponde ao coeficiente de extinção específica ao comprimento de onda m, sendo o comprimento de onda para absorção máxima por volta de 270 nm.

Os hidroperóxidos conjugados absorvem a 232 nm, enquanto os produtos da oxidação secundária (aldeídos e cetonas), absorvem a outros comprimentos de onda (262, 268, 270 e 274 nm). Os dienos e trienos conjugados, formados durante o processo de refinação, também absorvem a 270 nm. Portanto, valores baixos destes coeficientes específicos correspondem a um azeite de boa qualidade. ^[15]

As características organolépticas constituem o conjunto de sensações que são detectadas pelos sentidos, ou seja, cheiro, sabor, aspecto e cor. Os principais atributos olfacto-gustativos do azeite são o frutado de azeitona ou de outros frutos maduros, o verde de folha ou erva, o amargo, o picante e o doce.

O aspecto está relacionado com a limpidez, à temperatura ambiente normal, e com a presença ou não de depósito.

Finalmente, a cor é condicionada, como já foi referido, pelo conteúdo em pigmentos. Este parâmetro de qualidade tem como medida a ausência de defeitos e é determinado através da análise sensorial do azeite. ^[12]

1.7. Adulteração de azeites

Devido às suas características sensoriais excepcionais e à sua produção limitada, o azeite virgem apresenta um elevado valor de mercado, sendo por isso alvo de adulterações frequentes. A adulteração mais comum é a adição de outras categorias de azeite ou de outros óleos vegetais, ambos de menor valor comercial.

A determinação da composição de esteróis é, normalmente, a forma de avaliar a presença de outros tipos de óleos no azeite, visto que o azeite apresenta uma composição muito característica destes compostos. ^[22,23]

Com o objectivo de prevenir adulterações, a União Europeia estabeleceu valores máximos para a composição dos esteróis no azeite, segundo o Regulamento (CE) nº2568/91. ^[24]

1.8. NIR (Infravermelho Próximo)

A tecnologia NIR foi desenvolvida em meados dos anos 70 pelo Departamento de Agricultura dos Estados Unidos. A primeira aplicação foi a proteína do trigo, e gordura/óleo da soja para permitir que as estações de manuseio de grãos pudessem pagar aos fazendeiros de acordo com o teor de proteína/óleo, e segregar o trigo em diferentes silos pois os métodos clássicos de análise são muito lentos para este tipo de trabalho.

A obtenção de informações rápidas referentes à composição específica de um produto é uma ferramenta de um valor incalculável para a garantia deste produto. Quanto mais rápido é determinada uma mudança de especificação deste produto, mais rápido uma correcção pode ser feita, implicando um melhor controle da qualidade e uma redução de custos, pois não haverá desperdício.

A técnica NIR é a ferramenta ideal para a determinação de componentes tais como gordura, proteína, humidade, fibras, açúcares, amido, etc. em alimentos. A NIR permite que estas análises sejam realizadas simultaneamente, com grande reprodutibilidade e precisão, em menos de 1 minuto e quase sem preparação da amostra. É ainda uma técnica não-destrutiva, de baixo custo e fornece um ambiente de trabalho seguro. ^[25]

No caso dos azeites, o NIR tem sido utilizado para prever e identificar adulterações, para diferenciar e classificar óleos vegetais e para determinar o índice de acidez e de amargor do azeite. ^[26]

O espectro electromagnético está dividido em várias regiões: raios gama, raios X, ultravioleta, visível, infra-vermelho, micro-ondas e radio-frequências.

Cada uma destas regiões possui diferentes energias, que estão relacionadas com um tipo de transição atómica ou molecular. Desta forma, a radiação IR, não provoca as mesmas transições electrónicas que as suas congeneres ultra-violeta, visível ou raios-X. A radiação do Infravermelho não tem energia suficiente para provocar excitação dos electrões, conseguindo apenas alterar os estados vibracionais e rotacionais das moléculas, podendo ser usado como técnica espectroscópica não destrutiva. ^[27]

A radiação no infra-vermelho é dividida em três tipos: IR-longinquo, IR-médio e IR-próximo, sendo a mais popular e usada em química alimentar a do infravermelho próximo (NIR).^[28]

As atribuições da banda NIR relativamente ao azeite estão apresentadas na Tabela 5.^[29]

Na Figura 12 está representado um exemplo de um espectro NIR do azeite.

Tabela 5: Principais números de onda e os respectivos grupos funcionais do azeite.^[29]

Números de onda (cm ⁻¹)	Grupo funcional	Descrição
8560	CH ₃ -	Alongamento C-H no 2º sobretom
8260	-CH ₂ -	Alongamento C-H no 2º sobretom
7187	CH ₃ -	Alongamento 2C-H + C-H
7074	-CH ₂ -	Alongamento 2C-H + C-H
6010	<i>cis</i> R ₁ CH=CHR ₂ CH ₃ -	<i>cis</i> CH
5791	-CH ₂ -	1º sobretom C-H
5677		1º sobretom C-H
5260	Alongamento C=O	2º sobretom
5179	Alongamento C=O	2º sobretom ester
4707	-COOR	Alongamento C-H + alongamento C=O
4662	-HC=CH-	Alongamento C-H + alongamento C=C
4595	-HC=CH-	Alongamento assimétrico CH + alongamento C=C

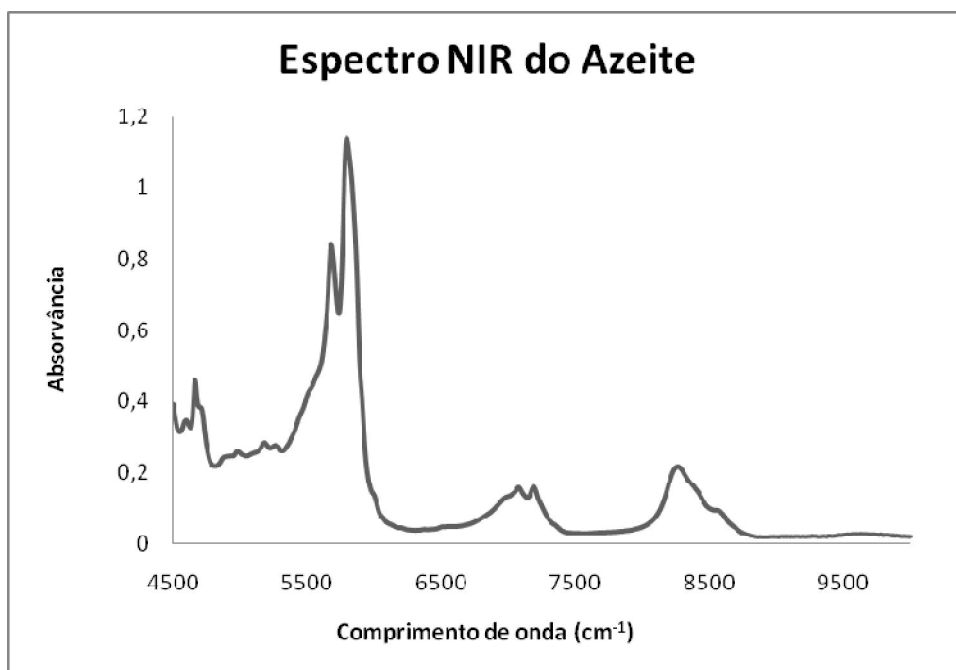


Figura 12: Espectro típico de NIR do Azeite.

1.9. Quimiometria

Com a crescente sofisticação das técnicas instrumentais de análise química, impulsionada pelo aparecimento de microprocessadores e microcomputadores no laboratório, técnicas de tratamentos de dados mais complexas do ponto de vista matemático e estatístico tornaram-se necessárias.

A análise de dados é uma parte essencial em todo o processo experimental, sendo univariada quando somente uma variável é medida sistematicamente para várias amostras. Há muito tempo a estatística univariada vem sendo aplicada a problemas químicos, mas a sua utilização tornou-se limitada.

Nas últimas décadas, a análise multivariada foi introduzida no tratamento de dados químicos, ganhando rapidamente popularidade e dando origem a uma nova disciplina, baptizada de *Quimiometria*. O modelo estatístico dos métodos multivariados considera a correlação e a covariância entre muitas variáveis

analisadas simultaneamente, permitindo a extracção de uma quantidade muito maior de informação da variabilidade latente de um conjunto de dados.

A análise multivariada apresenta diferentes ferramentas de análise. No entanto, é necessário seleccionar a ferramenta adequada para um determinado tipo de análise.

Algumas ferramentas disponíveis em análise multivariada são:

- Noções de cálculo vectorial/matricial
- Formas e estruturas de sinais típicos
- Análise em componentes principais (PCA)
- Regressão multivariada:
 - o Regressão linear multivariada (MLR)
 - o Regressão de Ridge (RR)
 - o Regressão em componentes principais (PCR)
 - o Regressão multivariada parcial (PLS1 e PLS2)
- Análise factorial de correspondência (FCA)
- Análise discriminante (FDA)
- Análise canónica de correlação (CCA)
- Métodos de selecção de variáveis ^[30]

A regressão multivariada pode ser mais facilmente ilustrada, recorrendo-se à análise de dados espectrais. O processo consiste basicamente de duas fases: a calibração e a validação. Na fase de calibração, n espectros para um conjunto de amostras com composição conhecida são obtidos em p valores de energia diferentes, formando uma matriz \mathbf{X} , com n linhas e p colunas. Também uma matriz \mathbf{Y} com os valores de concentração pode ser formada contendo n linhas, correspondendo às diferentes amostras, e q colunas, indicando o número de diferentes componentes presentes nas amostras.

O próximo passo é desenvolver um modelo matemático apropriado que melhor possa reproduzir \mathbf{Y} a partir dos dados da matriz \mathbf{X} . Esse modelo é utilizado na

fase de previsão para estimar as concentrações dos constituintes de novas amostras, a partir de seus espectros. Os dados utilizados nesta fase formam o conjunto de teste. ^[31]

Os dados para a regressão multivariada podem ser organizados conforme apresentado na Figura 13. Os valores de reflectância dos espectros, a cada valor de frequência (ou comprimento de onda), são as variáveis independentes, e as concentrações das espécies de interesse nas amostras, as variáveis dependentes.

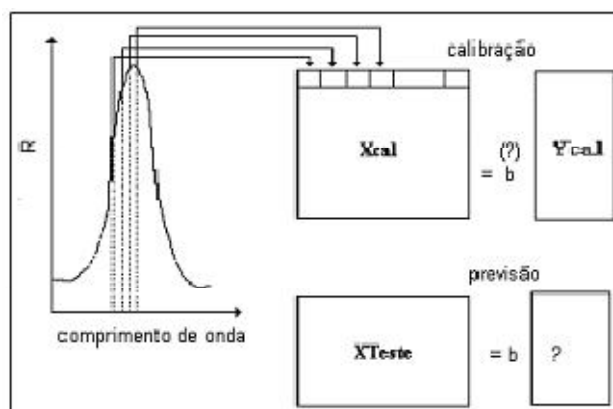


Figura 13: Organização dos dados para Regressão Multivariada ^[32]

1.9.1. Análise em Componentes Principais (PCA)

A técnica de análise em componentes principais (PCA), inicialmente descrita por Karl Pearson em 1901, recebeu contribuições matemáticas de Hotelling na década de 1930, mas teve de esperar pelo aparecimento dos computadores para ser largamente aplicada no domínio das ciências sociais, naturais e exactas, estabelecendo-se como uma peça base da análise multivariada.

Uma das razões para aplicar a Análise em Componentes Principais reside na sua capacidade de analisar uma quantidade enorme de dados, como aqueles produzidos pelos modernos equipamentos digitais. ^[30]

A análise em componentes principais é um método estatístico multivariado, que é aplicado para a compressão de dados sem perda de informações relevantes. A transformação é feita de modo a que o conjunto de dados possa ser representado por um número reduzido de novas variáveis chamadas de factores ou componentes principais que são combinações lineares das variáveis originais.

A PCA decompõe a matriz de dados originais numa soma de matrizes, chamados de coordenadas factoriais (*scores*) e contribuições factoriais (*loadings*), que podem ser calculados interactivamente pelo método dos mínimos quadrados.

Na análise exploratória são examinadas as relações entre as amostras e as variáveis, através de gráficos de coordenadas factoriais e contribuições factoriais respectivamente, os quais permitem também avaliar a influência de cada variável em cada amostra, encontrando similaridade ou diferenças nos dados. [33,34]

As principais vantagens da PCA são:

- Facilita a extracção de informação
- Auxilia a descrição de um modelo
- Reduz o número de variáveis, através de uma combinação linear das variáveis originais
- Método exploratório
- Método de extracção das principais fontes de variabilidade [30]

1.9.2. Regressão por mínimos quadrados parciais (PLS)

A base do método dos mínimos quadrados parciais (PLS) está na decomposição de uma matriz de dados \mathbf{X} , em termos da soma de várias matrizes \mathbf{M}_i , mais uma matriz de erros (que corresponde a parte não modelada de \mathbf{X}). As matrizes \mathbf{M}_i constituem os chamados componentes principais ou variáveis latentes (a), e são formadas pelo produto interno de dois vectores, \mathbf{t} (coordenadas factoriais) e \mathbf{p} (contribuições factoriais): [31]

$$\mathbf{X} = \mathbf{M}_1 + \mathbf{M}_2 + \dots + \mathbf{M}_a + \mathbf{E} \text{ ou}$$

$$\mathbf{X} = \mathbf{t}_1 \mathbf{p}_1^T + \mathbf{t}_2 \mathbf{p}_2^T + \dots + \mathbf{t}_a \mathbf{p}_a^T + \mathbf{E} \text{ ou}$$

$$\mathbf{X} = \mathbf{TP}^T + \mathbf{E}$$

No PLS, tanto a matriz das variáveis independentes \mathbf{X} como a das variáveis dependentes \mathbf{Y} , são representadas por :^[31]

$$\mathbf{X} = \mathbf{TP}^T + \mathbf{E}$$

$$\mathbf{Y} = \mathbf{UQ}^T + \mathbf{F}$$

1.9.3. Validação Cruzada Interna

A validação cruzada é uma metodologia utilizada para a determinação do número de componentes principais (ou variáveis latentes) baseada na avaliação da magnitude dos erros de previsão de um dado modelo de calibração. Esta avaliação pode ser feita pela comparação das previsões das concentrações previamente conhecidas (y_i , $i = 1:n$).

Este método consiste em:

a) Remover uma amostra i do conjunto de calibração, (*leave-one-out*) constrói-se o modelo;

b) Usa-se o novo modelo para prever os dados removidos (\hat{y}),

c) Calcula-se o erro de previsão ($y - \hat{y}$)

d) Calcula-se a soma dos quadrados dos erros de previsão que é definido por:

$$\text{PRESS} = \sum (y - \hat{y})^2$$

Onde, y é o valor conhecido e \hat{y} é o valor estimado.

O número mais adequado de componentes principais ou variáveis latentes é aquele a que corresponde o menor valor de PRESS (Prediction Error Sums of Squares).

Outra maneira de calcular o número de componentes principais é utilizando o RMSEP (Root Mean Square Error of Prediction) que é definido como a raiz quadrada da média de PRESS:

$$\text{RMSEP} = \sqrt{\frac{\text{PRESS}}{n}}$$

Ainda que o PRESS seja uma medida razoável para avaliar o poder de previsão de um modelo, ele é baseado num número finito de amostras e, portanto, está sujeito a um enviesamento. O número de componentes principais ou variáveis latentes com o valor de PRESS mínimo pode dar origem a um modelo sobre-estimado. Um critério para seleccionar melhor o número óptimo de componentes envolve a comparação do PRESS com poucas componentes, seleccionando o número de componentes em que a adição de outra não o diminui significativamente. ^[33]

A inspecção visual dos vectores das contribuições factoriais representa um critério complementar para a determinação do número significativo de variáveis latentes. A amplitude das contribuições factoriais mostra a covariância ou correlação com os valores da concentração. Componentes significativos têm picos em comum com os espectros e estes podem ser positivamente ou negativamente correlacionados.

Os métodos de calibração multivariada têm sido utilizados com bastante frequência e sucesso na resolução de problemas de interferência espectral, principalmente associadas a outras técnicas analíticas. ^[31,32]

2. Objectivos

O objectivo deste trabalho é utilizar o NIR para analisar os componentes do azeite virgem, uma vez que é um método rápido. Contudo, dada a complexidade dos sinais temos de utilizar uma abordagem de análise multivariada, como a PCA (Análise em Componentes Principais) e o PLS (Regressão por Mínimos Quadrados Parciais).

Os parâmetros a modelizar no azeite virgem são: a acidez, o índice de peróxidos, a espectrofotometria no UV, as ceras, os esteróis, os ácidos gordos totais e os isómeros *trans*.

Para a realização deste trabalho serão utilizadas análises químicas do azeite virgem efectuadas no Laboratório de Estudos Técnicos do Instituto Superior de Agronomia e espectros de Espectroscopia de Infravermelho Próximo (NIR) do mesmo azeite.

Serão elaboradas matrizes de dados com diferentes pré-tratamentos dos espectros para verificar quais os mais adequados. A PCA será utilizada para avaliar a distribuição das amostras e para detectar a possível presença de amostras atípicas. O PLS será utilizado para estabelecer a relação entre os dados espectrais e a componente de interesse.

3. Material e Métodos

As análises químicas feitas às amostras do azeite virgem foram realizadas pelo Laboratório de Estudos Técnicos (LET) no Instituto Superior de Agronomia.

Foi utilizado o Spectrum One NTS para a realização deste trabalho.

Os espectros de FT-NIR do azeite foram obtidos à temperatura ambiente, no intervalo de frequências da região do infra-vermelho próximo (10000 cm^{-1} - 4500 cm^{-1}), com uma resolução de 8 cm^{-1} e uma média de 50 varrimentos.

Para cada amostra foram adquiridos 5 espectros (réplicas).

Para a análise dos espectros foi utilizado uma aplicação desenvolvida internamente. Inicialmente foram avaliados diversos métodos de pré-processamento dos espectros de NIR com o objectivo de avaliar o mais adequado. Verificou-se que o pré-processamento mais adequado foi centrar e dividir pelo desvio padrão cada espectro. Os modelos de regressão foram validados por validação cruzada interna. A PCA foi utilizada para avaliar a distribuição das amostras e numa segunda fase detectar potenciais amostras atípicas. Foram duas as amostras encontradas que tiveram de ser eliminadas devido a estarem num grupo diferente de todas as outras e de estarem a aumentar o erro de previsão e o número de variáveis latentes a utilizar.

O PLS1 foi utilizado para construir os modelos de regressão, para ver o número de variáveis latentes de cada parâmetro, para obter as contribuições factoriais ponderadas do azeite, um parâmetro muito importante neste trabalho, e para excluir o ruído dos espectros, pois através da análise dos coeficientes b foi possível seleccionar a melhor região do espectro a ser analisada, eliminando assim a região que apresentava muito ruído.

3.1. Métodos de análise do azeite

3.1.1. Acidez

A acidez, expressa em percentagem de ácido oléico, foi determinada pelo método descrito no anexo II do Regulamento (CEE) nº 2568/91 e nas posteriores alterações indicadas no Regulamento (CE) nº 702/2007.

Segundo os regulamentos, o método tem como princípio a dissolução da amostra numa mistura de solventes, seguida de titulação dos ácidos gordos livres presentes com uma solução etanólica de hidróxido de potássio, na presença do indicador fenolftaleína.

O resultado é dado pela seguinte equação:

$$A = \frac{V \times C \times M}{10 \times m}$$

Onde:

A é o grau de acidez, expresso em percentagem de ácido oléico;

V é o volume consumido da solução de hidróxido de potássio, expresso em mililitros;

C é a concentração exacta da solução de hidróxido de potássio utilizada, expressa em moles por mililitro;

M é a massa molar do ácido oléico, expressa em gramas por mole;

m é a massa da toma do ensaio, expressa em gramas.

Toma-se como resultado a média aritmética de duas determinações.

3.1.2. Ácidos gordos totais e isómeros *trans*

A determinação dos ácidos gordos totais e dos isómeros *trans* foi realizada de acordo com o método descrito no anexo X do Regulamento (CEE) nº 2568/91 posteriormente alterado pelo Regulamento (CE) nº 796/2002 e pelo Regulamento (CE) nº 702/2007.

Esta determinação procede-se em duas fases: a preparação dos ésteres metílicos dos ácidos gordos (anexo X_B) e a aplicação da cromatografia gasosa para determinar qualitativamente e quantitativamente a composição da mistura de ésteres metílicos dos ácidos gordos (anexo X_A).

Para a preparação dos ésteres metílicos dos ácidos gordos foi usado o método da transesterificação a frio por meio de uma solução metalónica de hidróxido de potássio.

Os resultados, expressos em percentagem dos diferentes ácidos gordos, são fornecidos através da análise do cromatograma.

3.1.3. Esteróis totais, eritrodiol e uvaol

Os teores de esteróis e de eritrodiol e uvaol foram determinados de acordo com os anexos V e VI, respectivamente, do Regulamento (CEE) nº 2568/91, posteriormente alterado pelo Regulamento (CE) nº 702/2007.

A matéria gorda, adicionada de α -colestanol como padrão interno, é saponificada com hidróxido de potássio em solução etanólica e, em seguida, o insaponificável é extraído com éter etílico. Procede-se então à separação do insaponificável por cromatografia em camada fina de gel de sílica, isolando-se as zonas correspondentes à fracção esterólica e à fracção de eritrodiol e uvaol.

Os esteróis, o eritrodiol e o uvaol recuperados no gel de sílica são convertidos nos respectivos trimetilsililéteres através da adição de um reagente de sililação e, posteriormente, são analisados por cromatografia em fase gasosa em coluna capilar.

A percentagem de cada esterol, calculada através da análise do cromatograma, é expressa em percentagem relativa ao conjunto esteróis, de acordo com a seguinte equação:

$$\% \text{ do esterol } x = \frac{A_x}{A} \times 100$$

Onde:

A_x corresponde à área, no cromatograma, do pico do esterol x ;

A consiste na soma das áreas das bandas do cromatograma, correspondentes a cada um dos esteróis.

O teor de esteróis totais, expressos em mg/kg de matéria gorda, é determinado através da soma dos teores de cada um dos esteróis, dados pela seguinte equação:

$$\text{esterol } x \text{ (mg/100g)} = \frac{A_x \times m_s \times 100}{A_s \times m}$$

Onde:

A_x corresponde à área, no cromatograma, do pico do esterol x ;

A_s corresponde à área, no cromatograma, do pico do α -colestanol;

m_s é a massa de α -colestanol adicionada, expressa em miligramas;

m é a massa da toma da amostra usada na determinação, expressa em gramas.

O teor de eritrodiol + uvaol, expresso em percentagem relativa ao conjunto esteróis mais eritrodiol e uvaol, é calculado a partir da seguinte equação:

$$\% \text{ eritrodiol + uvaol} = \frac{A_1 + A_2}{A_1 + A_2 + \sum A_E} \times 100$$

Onde:

A_1 corresponde à área, no cromatograma, do pico do eritrodiol;

A_2 corresponde à área, no cromatograma, do pico do uvaol;

ΣA_E consiste na soma das áreas das bandas do cromatograma, correspondentes a cada um dos esteróis.

3.1.4. Índice de peróxidos

O índice de peróxidos (IP) foi determinado através do método descrito no anexo III do Regulamento (CEE) nº 2568/91, posteriormente alterado pelo Regulamento (CE) nº 702/2007.

Este parâmetro corresponde à quantidade de substâncias presentes na amostra capazes de oxidar o iodeto de potássio em meio acético. O IP é expresso em miliequivalentes de oxigénio activo por kg de gordura.

A toma da amostra é dissolvida em ácido acético e clorofórmio, com uma solução de iodeto de potássio. Em seguida, é realizada uma titulação do iodo libertado com uma solução padrão de tiosulfato de sódio, usando uma solução de amido como indicador.

O IP é dado pela seguinte equação:

$$IP = \frac{V \times N \times 1000}{m}$$

Onde:

V é volume gasto de tiosulfato de sódio, expresso em mililitros;

N é a normalidade exacta da solução de tiosulfato de sódio usada;

m é a massa da toma de amostra em estudo, expressa em gramas.

3.1.5. Análise espectrofotométrica no Ultra-Violeta

A análise espectrofotométrica no ultravioleta foi realizada de acordo com o anexo IX do Regulamento (CEE) nº 2568/91 posteriormente alterado pelo Regulamento (CE) nº 702/2007.

A matéria gorda em estudo é dissolvida num solvente apropriado, determinando-se, em seguida, a absorvância da solução no comprimento de onda prescrito em relação ao solvente puro. Os coeficientes de extinção específica são calculados a partir das leituras espectrofotométricas.

Os coeficientes de extinção específica calculam-se, nos diferentes comprimentos de onda, de acordo com a equação:

$$K_{\lambda} = \frac{A_{\lambda}}{c \times s}$$

Onde,

K_{λ} é o coeficiente de extinção específica no comprimento de onda λ ;

A_{λ} é a absorvância no comprimento de onda λ ;

c é a concentração da solução, expressa em g/100 mL;

s é a espessura da tina, expressa em centímetros.

3.1.6. Ceras

O teor de ceras foi realizado de acordo com o anexo IV do Regulamento (CEE) nº 2568/91 posteriormente alterado pelo Regulamento (CE) nº 702/2007.

As ceras são separadas em função do número de átomos de carbono e o teor de ceras é calculado por cromatografia em fase gasosa com coluna capilar.

Por recurso ao integrador, determina-se as áreas das bandas correspondentes ao padrão interno e aos ésteres alifáticos C_{40} a C_{46} .

Para determinar o teor de cada um dos ésteres, expresso em mg/kg de gordura, utiliza-se a seguinte fórmula:

$$\text{éster} \left(\frac{\text{mg}}{\text{kg}} \right) = \frac{A_x \times m_s \times 1000}{A_s \times m}$$

Em que:

A_x = área do pico correspondente a cada éster, em milímetros quadrados;

A_s = área do pico correspondente ao padrão interno, em milímetros quadrados;

m_s = massa do padrão interno adicionado, em miligramas;

m = massa de amostra tomada para análise, expressa em gramas.

4. Resultados e Discussão

Para a realização deste trabalho foram preparados diversos conjuntos de dados e foram feitos diferentes pré-tratamentos de dados para avaliar o mais adequado na modelação.

Para todos os espectros foram analisados os coeficientes **b** e as contribuições factoriais ponderadas, e através da análise destes, foram escolhidas as regiões de interesse, eliminando as zonas que apresentavam ruído.

O número de Variáveis Latentes (LV) foi determinado com recurso à Validação Cruzada Interna. Quanto maior o número de LV's mais complexa a relação entre a variabilidade presente nos espectros e o parâmetro a calibrar.

Alguns parâmetros, tais como o Colesterol e o Brassicasterol não foram analisados, uma vez que as amostras de azeite não apresentavam valores para estes, isto é, estes compostos não se encontravam no azeite, tal como seria de esperar.

A PCA foi utilizada para avaliar a distribuição das amostras e para detectar a possível presença de amostras atípicas. O PLS foi utilizado para estabelecer a relação entre os dados espectrais e a componente de interesse.

Com o valor do coeficiente de determinação, R^2 , foi possível quantificar a variabilidade explicada pelo modelo.

Tabela 6a: Tabela de resultados obtidos pelo Laboratório de Estudo Técnicos do Instituto Superior de Agronomia

			Análise espectrofotométrica				Esteróis (%)						
Amostras	Acidez (% de ácido oléico)	Índice de Peróxido (meq O ₂ /kg)	K ₂₃₂	K ₂₇₀	Δ K	Ceras (mg/kg)	Brassicasterol (%)	Campesterol (%)	Estigmasterol (%)	β-sitosterol (aparente) (%)	Δ-7- estigmastenol	Esteróis totais (mg/kg)	Eritrodiol + uvaol (%)
1	0,36	74,78	4,930	0,229	-0,004	81,4	n.a.	3,67	0,55	95,12	0,17	1126,47	3,45
2	0,93	52,48	5,505	0,150	0,001	117,59	n.a.	3,34	0,86	95,15	0,15	1517,70	1,92
3	0,60	79,21	4,710	0,229	0,005	133,68	n.a.	3,27	1,00	95,01	0,12	1226,59	2,96
4	0,91	58,51	4,165	0,244	0,006	161,20	n.a.	2,33	1,06	94,99	0,34	1424,93	3,05
5	0,80	45,93	3,580	0,152	-0,002	75,83	n.a.	2,32	0,44	94,96	0,37	2504,83	1,24
6	0,60	26,86	3,485	0,145	0,001	319,75	n.a.	3,00	0,54	95,38	0,18	2150,03	1,30
7	0,23	10,31	1,595	0,156	-0,005	65,54	n.a.	4,12	0,78	94,04	0,19	1118,58	2,84
8	0,56	49,05	5,370	0,159	-0,001	94,88	n.a.	2,50	0,47	96,14	0,18	2162,62	1,49
9	0,43	71,75	7,850	0,239	0,006	31,96	n.a.	2,35	0,50	96,08	0,20	1803,19	1,23
10	0,50	29,12	3,483	0,190	0,002	148,07	n.a.	3,03	0,43	95,66	0,17	1486,19	1,10
11	0,26	26,15	2,940	0,177	-0,004	83,91	n.a.	3,94	0,70	94,43	0,18	1284,10	3,62
12	0,30	12,44	1,935	0,135	-0,003	96,14	n.a.	3,07	0,41	95,55	0,12	1423,60	2,20
13	0,80	12,41	1,975	0,170	-0,001	134,73	n.a.	3,79	0,67	94,73	0,13	1168,70	3,96
14	0,30	9,49	2,655	0,689	0,075	229,64	n.a.	3,41	1,21	94,31	0,31	1412,15	3,21
15	5,59	13,01	1,345	0,127	0,000	114,31	n.a.	1,95	0,89	94,52	0,55	1971,89	3,12

Tabela 6b: Tabela de resultados obtidos pelo Laboratório de Estudo Técnicos do Instituto Superior de Agronomia

	Ácidos gordos totais (%)																
Amostras	C14:0 (%)	C15:0 (%)	C16:0 (%)	C16:1 (%)	C17:0 (%)	C17:1 (%)	C18:0 (%)	C18:1 (%)	C18:2 (%)	C18:3 (%)	C20:0 (%)	C20:1 (%)	C22:0 (%)	C22:1 (%)	C24:0 (%)	Isómeros transoléticos (%)	Isómeros translinoléticos + translinolénicos (%)
1	0,01	n.a.	11,68	0,85	0,04	0,07	2,59	78,02	5,18	0,60	0,46	0,29	0,15	n.a.	0,06	0,02	0,01
2	0,01	n.a.	11,50	1,06	0,04	0,07	3,37	74,12	8,26	0,63	0,49	0,27	0,12	n.a.	0,06	0,02	0,01
3	0,01	n.a.	11,91	1,07	0,04	0,08	2,71	76,36	6,44	0,53	0,43	0,26	0,11	n.a.	0,05	0,02	0,01
4	0,01	n.a.	9,51	0,51	0,04	0,05	2,72	79,82	5,71	0,50	0,46	0,41	0,17	n.a.	0,09	0,02	0,01
5	0,01	n.a.	11,72	0,64	0,07	0,11	2,46	71,52	11,85	0,69	0,41	0,33	0,13	n.a.	0,06	0,02	0,02
6	0,01	n.a.	11,74	1,03	0,05	0,07	2,47	69,36	13,83	0,60	0,40	0,27	0,12	n.a.	0,05	0,02	0,02
7	0,01	n.a.	11,12	0,80	0,04	0,07	2,59	78,11	5,56	0,72	0,46	0,30	0,16	n.a.	0,06	0,02	0,01
8	0,01	n.a.	15,97	1,86	0,04	0,06	2,33	63,38	14,89	0,70	0,38	0,21	0,11	n.a.	0,06	0,02	0,02
9	0,01	n.a.	16,03	1,77	0,03	0,07	2,34	64,78	13,66	0,59	0,36	0,21	0,10	n.a.	0,05	0,01	0,02
10	0,02	n.a.	12,24	0,87	0,17	0,29	2,65	75,69	6,71	0,52	0,40	0,29	0,10	n.a.	0,05	0,019	0,012
11	0,02	n.a.	11,50	0,82	0,05	0,08	2,51	77,44	5,89	0,73	0,45	0,29	0,16	n.a.	0,06	0,018	0,008
12	0,02	n.a.	11,29	0,88	0,04	0,07	2,70	76,91	6,50	0,68	0,44	0,28	0,14	n.a.	0,05	0,015	0,008
13	0,01	n.a.	10,16	0,76	0,07	0,12	2,69	78,92	5,70	0,65	0,44	0,28	0,15	n.a.	0,05	0,020	0,010
14	0,02	n.a.	11,57	1,07	0,06	0,10	2,69	75,22	7,67	0,69	0,42	0,29	0,14	n.a.	0,06	0,067	0,209
15	0,01	n.a.	9,91	0,62	0,04	0,07	3,20	77,43	7,06	0,60	0,49	0,35	0,15	n.a.	0,07	0,020	0,010

Tabela 7: Tabela de resultados obtidos após análise quimiométrica

Número de Variáveis Latentes (LV)	Parâmetro	Coefficiente de determinação (R^2)	Root Mean Square Error of Prediction (RMSEP)	Regiões de interesse
2	Acidez (% de ácido oléico)	0,95	1,33	7148-4500 cm^{-1}
5	Índice de Peróxido (meq O_2/kg)	0,90	24,29	6960-4500 cm^{-1}
7	K_{232}	0,94	3,60	6978-4500 cm^{-1}
7	K_{270}	0,94	0,30	7446-4500 cm^{-1}
6	ΔK	0,93	0,05	6792-4500 cm^{-1}
9	Ceras (mg/kg)	0,96	258,99	6808-4500 cm^{-1}
-	Colesterol (%)	-	-	-
-	Brassicasterol (%)	-	-	-
5	Campesterol (%)	0,90	0,69	7054-4500 cm^{-1}
7	Estigmasterol (%)	0,96	0,52	8110-4500 cm^{-1}
7	β -sitosterol (%)	0,96	1,81	8134-4500 cm^{-1}
7	Δ -7-estigmastenol (%)	0,96	0,36	8146-4500 cm^{-1}
8	Esteróis totais (mg/kg)	0,93	817,37	8070-4500 cm^{-1}
10	Eritrodiol + uvaol (%)	0,91	2,87	8090-4500 cm^{-1}
-	Ácido mirístico C14:0 (%)	-	-	-
4	Ácido palmítico C16:0 (%)	0,91	2,72	7066-4500 cm^{-1}
5	Ácido palmitoléico C16:1 (%)	0,91	0,38	9354-4500 cm^{-1}
8	Ácido heptadecanóico C17:0 (%)	0,95	0,13	8270-4500 cm^{-1}
8	Ácido heptadecenóico C17:1 (%)	0,96	0,22	8022-4500 cm^{-1}

7	Ácido esteárico C18:0 (%)	0,94	0,72	7942-4500 cm ⁻¹
5	Ácido oléico C18:1 (%)	0,97	4,91	8836-4500 cm ⁻¹
5	Ácido linoléico C18:2 (%)	0,93	3,45	8318-4500 cm ⁻¹
8	Ácido linolénico C18:3 (%)	0,95	0,35	8154-4500 cm ⁻¹
5	Ácido araquídico C20:0 (%)	0,94	0,05	8356-4500 cm ⁻¹
6	Ácido eicosanóico C20:1 (%)	0,91	0,04	8802-4500 cm ⁻¹
7	Ácido beénico C22:0 (%)	0,94	0,08	8138-4500 cm ⁻¹
8	Ácido lignocérico C24:0 (%)	0,91	0,03	8150-4500 cm ⁻¹
7	Isómeros transoléicos (%)	0,98	0,03	8138-4500 cm ⁻¹
7	Isómeros translinoléicos + translinolénicos (%)	0,94	0,13	8132-4500 cm ⁻¹

4.1. Quantificação da Acidez

Relação entre os valores observados e previstos

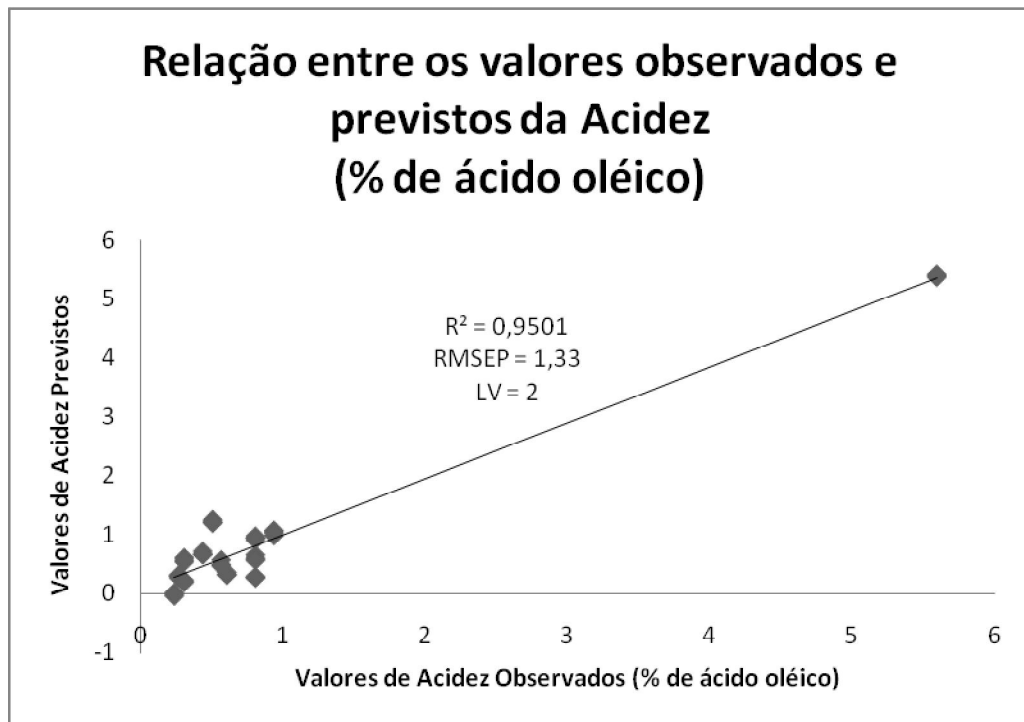


Figura 15: Relação entre os valores observados e previstos da Acidez (% de ácido oléico)

Analisando o gráfico da figura 15, verifica-se que o coeficiente de determinação da acidez, R^2 , é de 0,9501 e que o erro, RMSEP, atribuído a este parâmetro é de 1,33%.

Nota-se ainda a presença de uma amostra com valores acima da média, o que indica que o modelo está a ser muito afectado por esta amostra.

Os valores de acidez do azeite encontram-se entre 0,23 e 5,59. Os valores teóricos de acidez podem ser eventualmente elevados mas neste caso existe uma amostra que tem valores acima dos legais, sendo por isso uma amostra atípica.

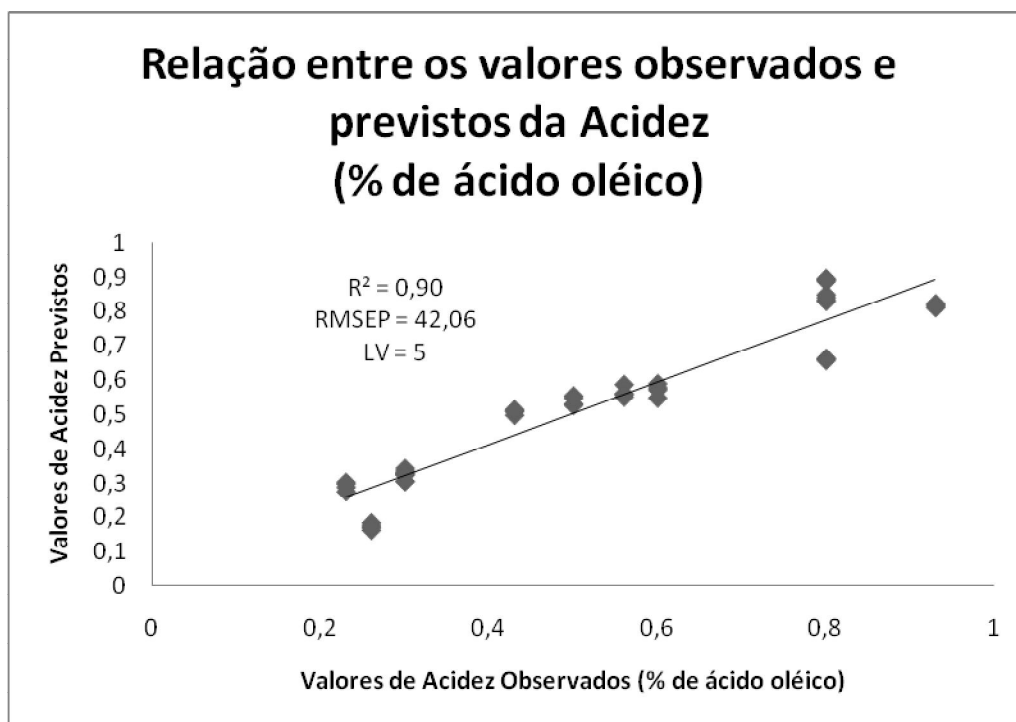


Figura 16: Relação entre os valores observados e previstos da Acidez (% de ácido oléico) após exclusão da amostra atípica.

Após a exclusão da amostra atípica da acidez verifica-se que o coeficiente de determinação da acidez, R^2 é menor (0,90) o erro associado a este parâmetro aumentou consideravelmente (RMSEP 42,06). A complexidade também aumenta de 2 para 5 LV's.

O modelo pode ser usado para prever valores por gamas de acidez (ex. acidez menor que 0,8°, ou menor que 0,7°, etc.).

Contribuições factoriais ponderadas (LV1)

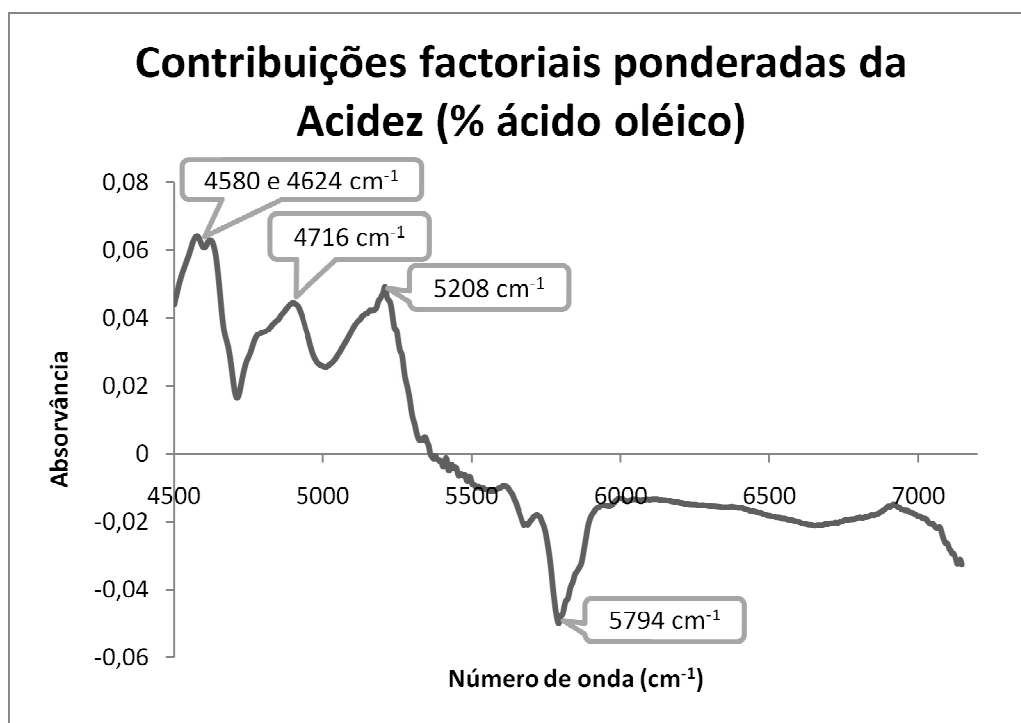


Figura 17: Contribuições factoriais ponderadas da Acidez

Relativamente à análise da figura 17, verifica-se que as bandas de maior intensidade correspondem aos valores de 5794cm^{-1} , 5208cm^{-1} , 4716cm^{-1} , 4624cm^{-1} e 4580cm^{-1} .

A região da banda de absorção de 5794cm^{-1} deve-se, principalmente, à absorção do grupo $-\text{CH}_2-$ (primeiro sobretom CH), a região de 5208cm^{-1} deve-se à absorção do alongamento do grupo $\text{C}=\text{O}$ (segundo sobretom), a região de 4716cm^{-1} deve-se à absorção do grupo $-\text{COOR}$ (alongamento $\text{C}-\text{H}$ + alongamento $\text{C}=\text{O}$), a região de 4624cm^{-1} deve-se à absorção do grupo $-\text{HC}=\text{CH}-$ (alongamento $\text{C}-\text{H}$ + alongamento $\text{C}=\text{C}$) e a região de 4580cm^{-1} deve-se à absorção do grupo $-\text{HC}=\text{CH}-$ (alongamento CH assimétrico + alongamento $\text{C}=\text{C}$).

As contribuições factoriais da acidez podem ser relacionadas com a estrutura do ácido oléico, tal como podemos ver na figura 18.

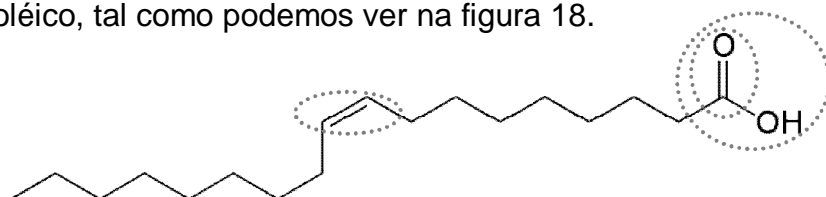


Figura 18: Estrutura do ácido oléico com as bandas de absorção assinaladas.

4.2. Quantificação do Índice de Peróxido

Relação entre os valores observados e previstos

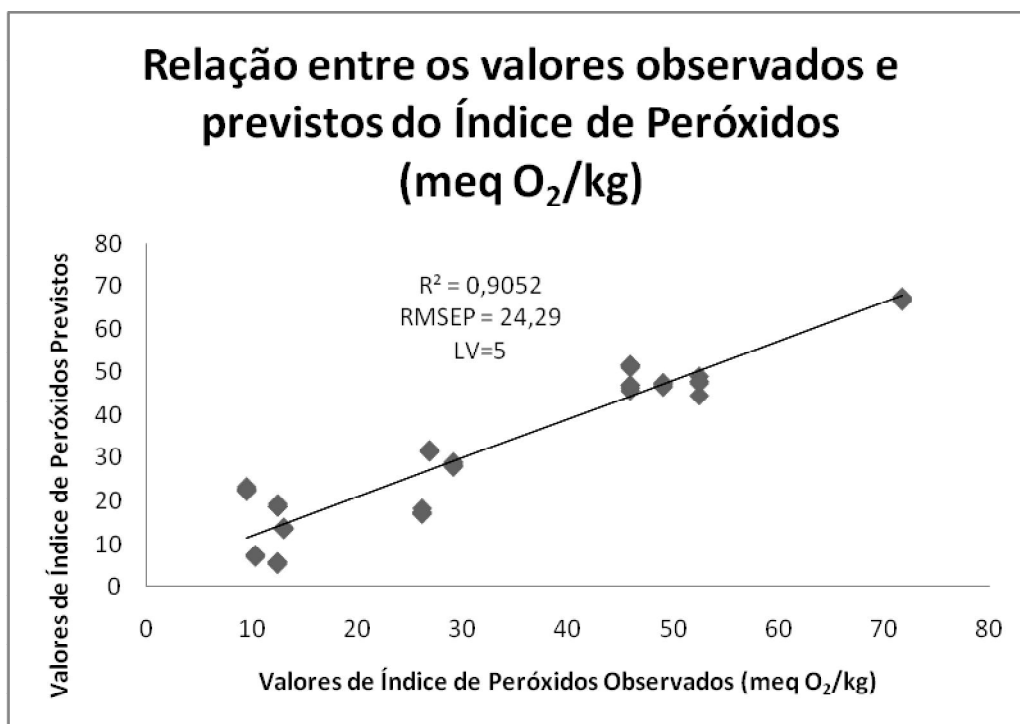


Figura 19: Relação entre os valores observados e previstos do Índice de Peróxido

Na figura 19, pode-se verificar que o coeficiente de determinação do Índice de Peróxido, R^2 , é de 0,9052 e que o erro, RMSEP, atribuído a este parâmetro é de 24,29 meq O₂/kg, o que indica que o modelo ainda não tem um bom poder de previsão.

Os valores do Índice de Peróxido do azeite encontram-se entre 9,48, e 79,21 meq O₂/kg. O Índice de Peróxido do azeite deve ser inferior a 20 meq O₂/kg, logo existem várias amostras que não estão conformes. Esta diferença de valores pode estar relacionada com a diferença de tempo que houve entre as análises químicas e as análises no NIR. O azeite é um produto sujeito a oxidações e daí que o índice de peróxidos esteja alterado.

Contribuições factoriais ponderadas (LV1)

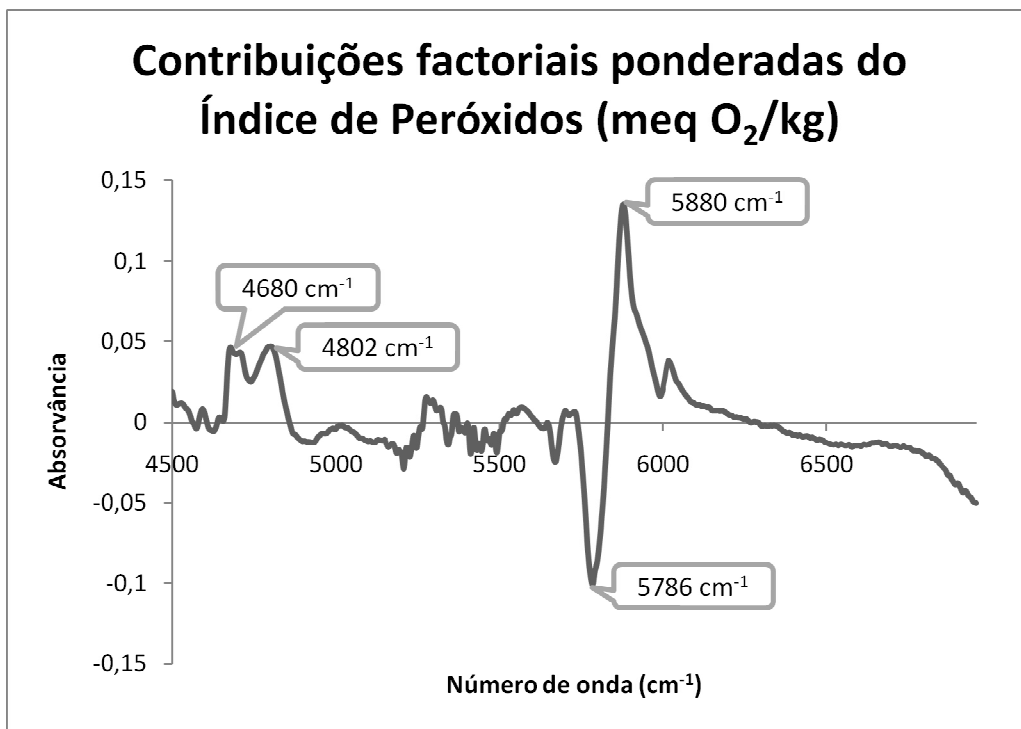


Figura 20: Contribuições factoriais ponderadas do Índice de Peróxido

Relativamente à análise da figura 20, verifica-se que as bandas de maior intensidade correspondem aos valores de 5880cm^{-1} , 5786cm^{-1} , 4802cm^{-1} e 4680cm^{-1} .

As região da banda de absorção de 5880cm^{-1} e de 5786cm^{-1} devem-se, principalmente, à absorção do grupo $-\text{CH}_2-$ (primeiro sobretudo CH), a região de 4802cm^{-1} deve-se à absorção do grupo $-\text{COOR}$ (alongamento C-H + alongamento C=O) e a região de 4680cm^{-1} deve-se à absorção do grupo $-\text{HC}=\text{CH}-$ (alongamento C-H + alongamento C=C).

Na figura 21, encontra-se a fórmula geral dos peróxidos. As contribuições factoriais do índice de peróxidos podem ser relacionadas com a estrutura destes.

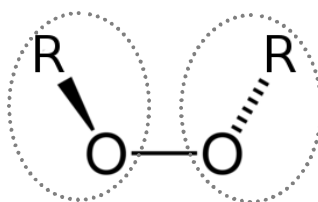


Figura 21: Fórmula geral dos peróxidos com algumas bandas de absorção assinaladas.

4.3. Quantificação do K_{232}

Relação entre os valores observados e previstos

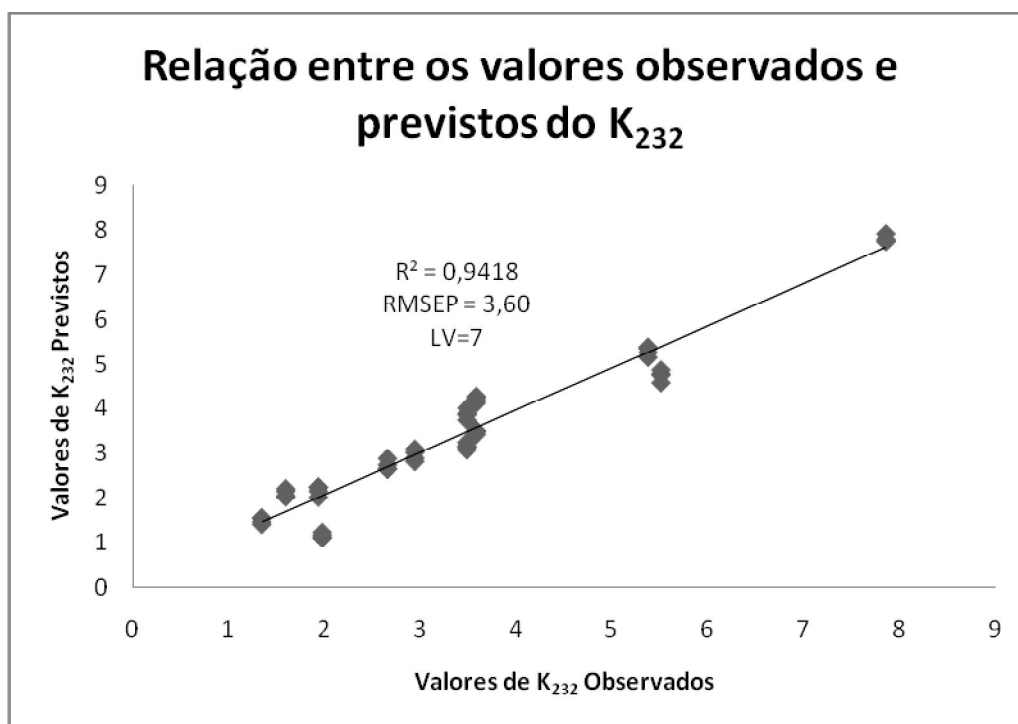


Figura 22: Relação entre os valores observados e previstos do K_{232}

Através da análise do gráfico da figura 22, verifica-se que o coeficiente de determinação do K_{232} , R^2 , é de 0,9418 e que o erro, RMSEP, atribuído a este parâmetro é de 3,60, o que indica que o modelo tem um poder de previsão razoável.

Os valores do K_{232} encontram-se entre 1,35 e 7,85. Tendo em conta que o k_{232} deveria ser inferior a 2,5, pode-se concluir que algumas amostras não estavam nos valores conformes.

De acordo com as coordenadas factoriais o K_{232} parece estar relacionadas com o índice de peróxidos, o que não seria surpreendente, tendo em conta que a peroxidação dos ácidos gordos pode levar a uma conjugação das duplas ligações.

Contribuições factoriais ponderadas (LV1)

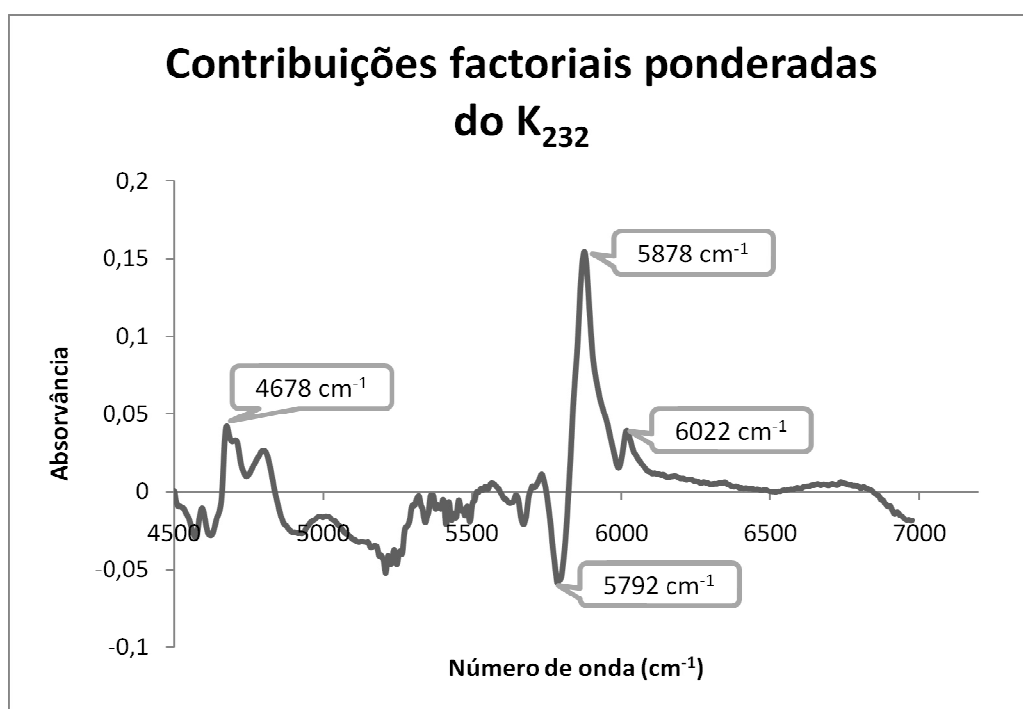


Figura 23: Contribuições factoriais ponderadas do K_{232}

Analisando as contribuições factoriais ponderadas da primeira variável latente do azeite, verifica-se que as bandas de maior intensidade correspondem aos valores de 6022 cm^{-1} , 5878 cm^{-1} , 5792 cm^{-1} e 4678 cm^{-1} .

As região da banda de absorção de 6022 cm^{-1} deve-se à absorção do grupo *cis* $R_1CH=CHR_2CH_3-$ (*cis* CH), a região de 5878 cm^{-1} e a de 5792 cm^{-1} devem-se à absorção do grupo $-CH_2-$ (primeiro sobretom CH) e a região de 4678 cm^{-1} deve-se à absorção do grupo $-HC=CH-$ (alongamento C-H + alongamento C=C).

Os compostos que absorvem a 232 nm são os dienos conjugados e por isso, ao analisar a fórmula geral destes, podem-se relacionar algumas bandas com a estrutura química dos dienos, tal como podemos ver na figura 24.

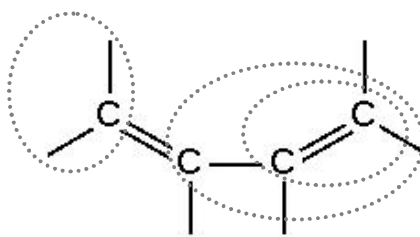


Figura 24: Fórmula geral dos dienos conjugados com as bandas de absorção assinaladas.

4.4. Quantificação do K_{270}

Relação entre os valores observados e previstos

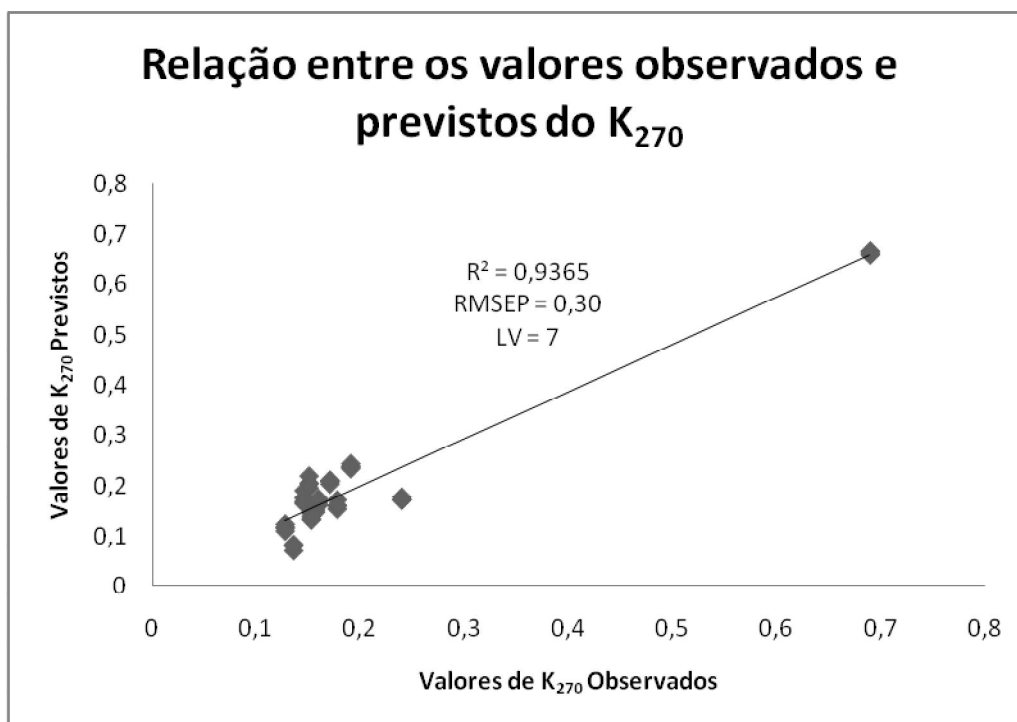


Figura 25: Relação entre os valores observados e previstos do K_{270}

Na figura 25, encontra-se a relação entre os valores observados e previstos do K_{270} e verifica-se que o coeficiente de determinação deste, R^2 , é de 0,9365 e que o erro, RMSEP, atribuído a este parâmetro é de 0,30.

Os valores do k_{270} de azeite, que são originados pelos grupos carbonilos, encontram-se entre 0,13 e 0,69 e deveriam ser inferiores a 0,22.

Nota-se ainda a presença de uma amostra com valores muito acima da média, condicionando o modelo.

Contribuições factoriais ponderadas (LV1)

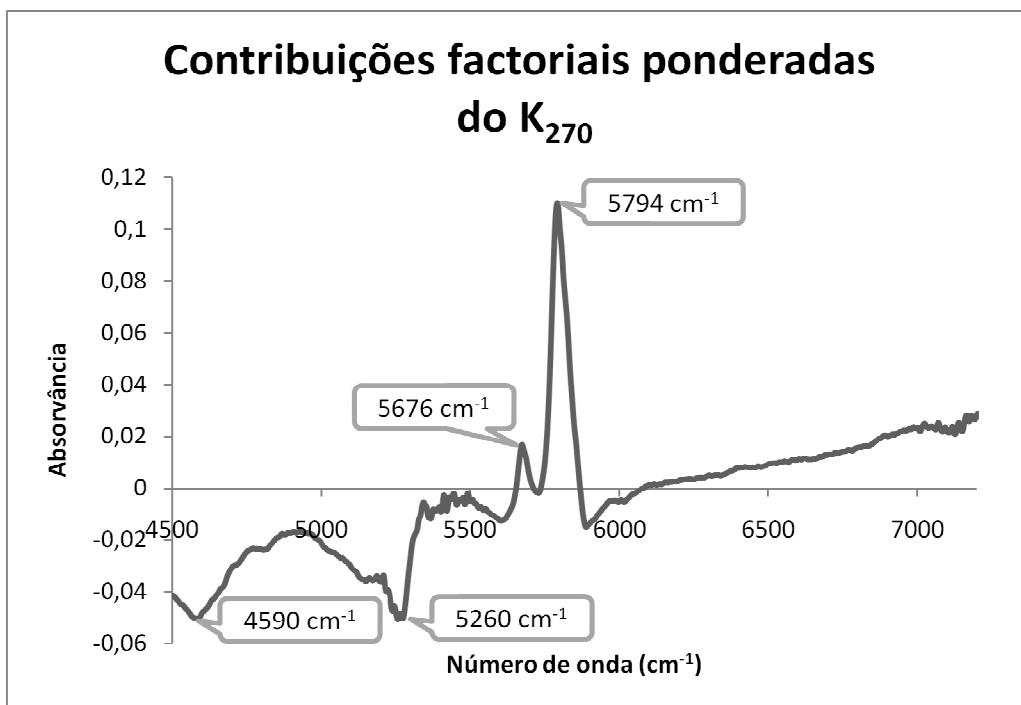


Figura 26: Contribuições factoriais ponderadas do K_{270}

Através da análise das contribuições factoriais ponderadas da primeira variável latente do azeite, verifica-se que as bandas de maior intensidade correspondem aos valores de 5794cm^{-1} , 5676cm^{-1} , 5260cm^{-1} e 4590cm^{-1} .

As região da banda de absorção de 5794cm^{-1} e a de 5676cm^{-1} devem-se à absorção do grupo $-\text{CH}_2-$ (primeiro sobretudo CH), a região de 5260cm^{-1} deve-se à absorção do grupo $\text{C}=\text{O}$ (segundo sobretudo) e a região de 4590cm^{-1} deve-se à absorção do grupo $-\text{HC}=\text{CH}-$ (alongamento CH assimétrico + alongamento $\text{C}=\text{C}$).

Os compostos que absorvem a 270 nm são os trienos conjugados e por isso, ao analisar a fórmula geral destes, podem-se relacionar algumas bandas, como o grupo $-\text{CH}_2-$ ou o grupo $-\text{HC}=\text{CH}-$ com a estrutura química dos trienos.

4.5. Quantificação do ΔK

Relação entre os valores observados e previstos

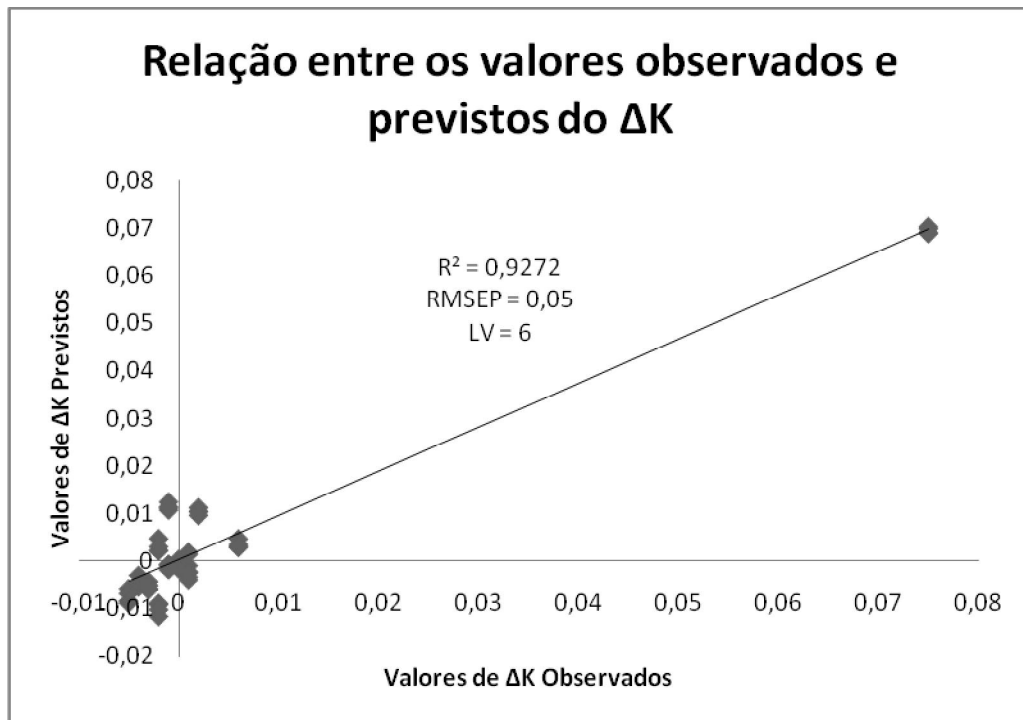


Figura 27: Relação entre os valores observados e previstos do ΔK

Analisando agora o gráfico da figura 27, verifica-se que o coeficiente de determinação do ΔK , R^2 , é de 0,9272 e que o erro, RMSEP, atribuído a este parâmetro é de 0,05.

Os valores do ΔK encontram-se entre -0,01 e 0,08, mas teoricamente deveriam ser inferiores a 0,01.

A amostra que se encontra fora dos limites de quantificação pode ser indicação de uma amostra atípica.

Para este parâmetro ainda não foi possível obter um modelo com poder de previsão. Como este parâmetro é obtido pela diferença entre os valores de K_{232} e K_{270} , vai estar afectado pelos erros destes 2 valores.

Contribuições factoriais ponderadas (LV1)

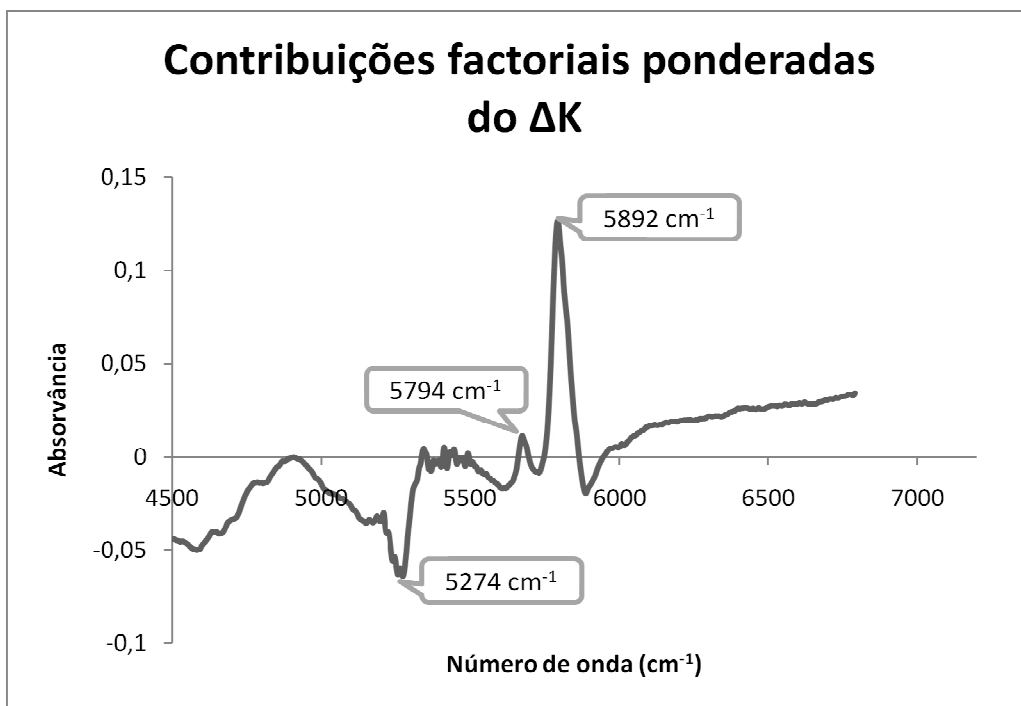


Figura 28: Contribuições factoriais ponderadas do ΔK

Relativamente à análise das contribuições factoriais ponderadas da primeira variável latente do azeite, verifica-se que as bandas de maior intensidade correspondem aos valores de 5892 cm^{-1} , de 5794 cm^{-1} e de 5274 cm^{-1} .

As região da banda de absorção de 5892 cm^{-1} e a de 5794 cm^{-1} devem-se à absorção do grupo $-\text{CH}_2-$ (primeiro sobretudo CH) enquanto que a banda de absorção de 5274 cm^{-1} deve-se ao grupo $\text{C}=\text{O}$ (segundo sobretudo).

4.6. Quantificação das Ceras

Relação entre os valores observados e previstos

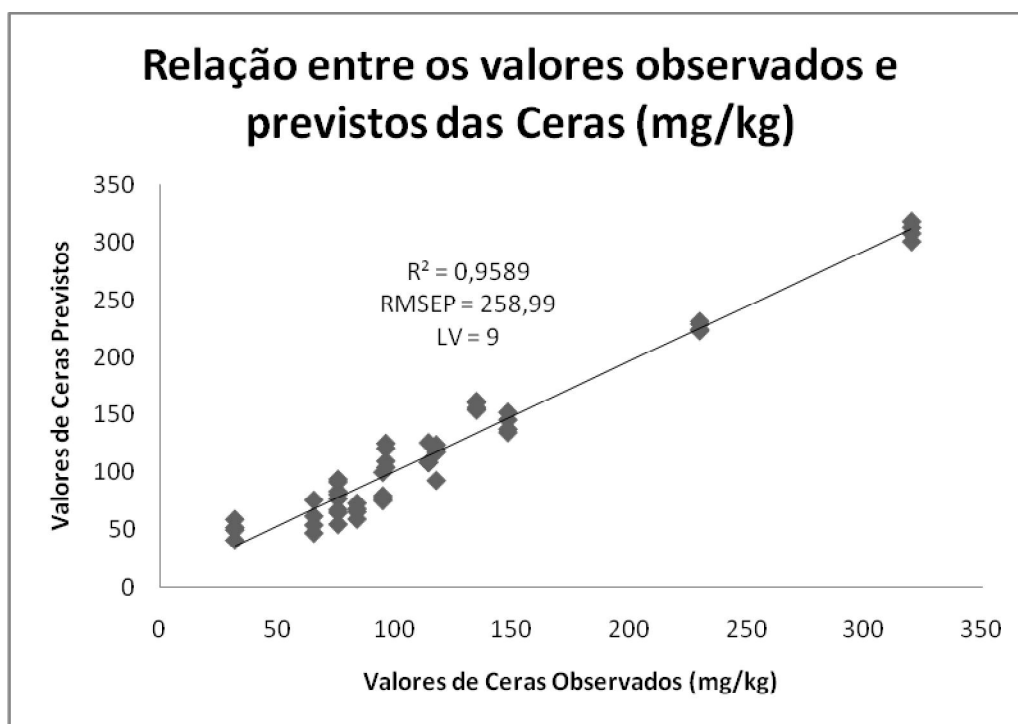


Figura 29: Relação entre os valores observados e previstos das Ceras

Analisando a relação entre os valores observados e previstos das Ceras, verifica-se que o coeficiente de determinação destas, R^2 , é de 0,9589 e que o erro, RMSEP, atribuído a este parâmetro é de 258,99 mg/kg, o que indica que o modelo não tem um bom poder de previsão.

Os valores das Ceras do azeite encontram-se entre 31,96 e 319,75 mg/kg.

O limite estabelecido para as Ceras é de 250 mg/kg, ou seja, existem algumas amostras que se encontram fora dos limites estabelecidos, podendo tratar-se de amostras de azeite refinado.

Contribuições factoriais ponderadas (LV1)

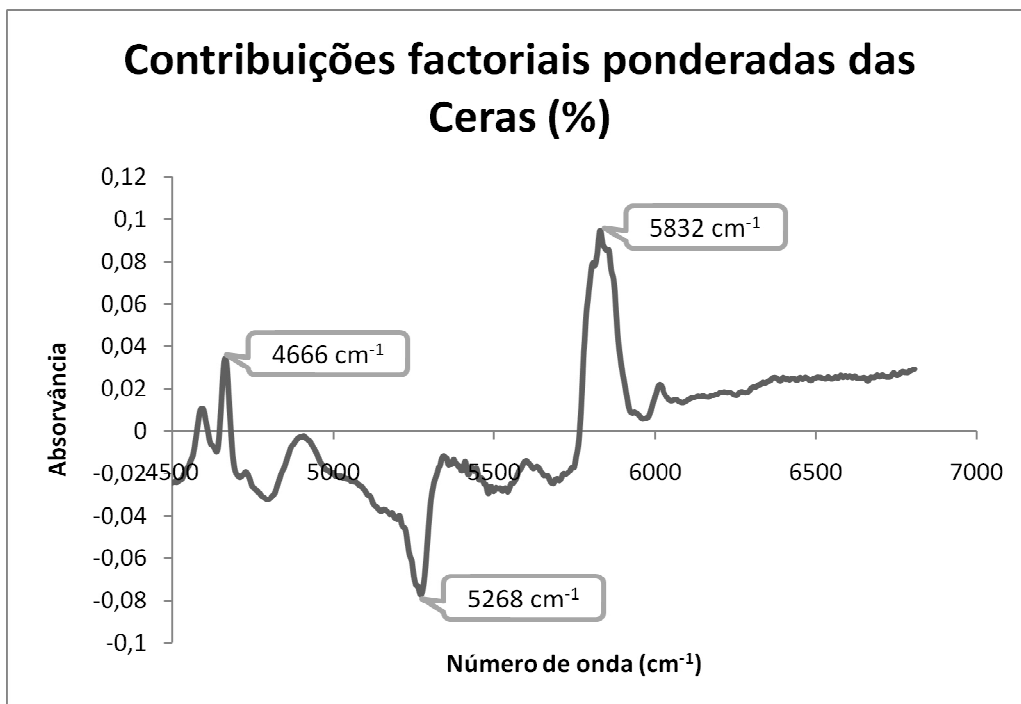


Figura 30: Contribuições factoriais ponderadas das Ceras

Analisando as contribuições factoriais ponderadas da primeira variável latente do azeite, verifica-se que as bandas de maior intensidade correspondem aos valores de 5832 cm^{-1} , 5268 cm^{-1} e 4666 cm^{-1} .

As região da banda de absorção de 5832 cm^{-1} deve-se à absorção do grupo $-\text{CH}_2-$ (primeiro sobretom CH), a de 5268 cm^{-1} deve-se à absorção do alongamento do grupo $\text{C}=\text{O}$ (segundo sobretom) e a região de 4666 cm^{-1} deve-se à absorção do grupo $-\text{HC}=\text{CH}-$ (alongamento CH + alongamento $\text{C}=\text{C}$).

Através da análise da figura 31, fórmula geral das ceras, pode-se relacionar algumas bandas de absorção com a estruturas das ceras, como é o caso do grupo $\text{C}=\text{O}$ e do $-\text{CH}_2-$.

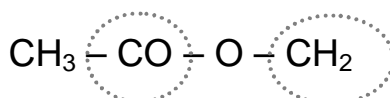


Figura 30: Fórmula geral das ceras com as bandas de absorção assinaladas.

4.7. Quantificação do Campesterol

Relação entre os valores observados e previstos

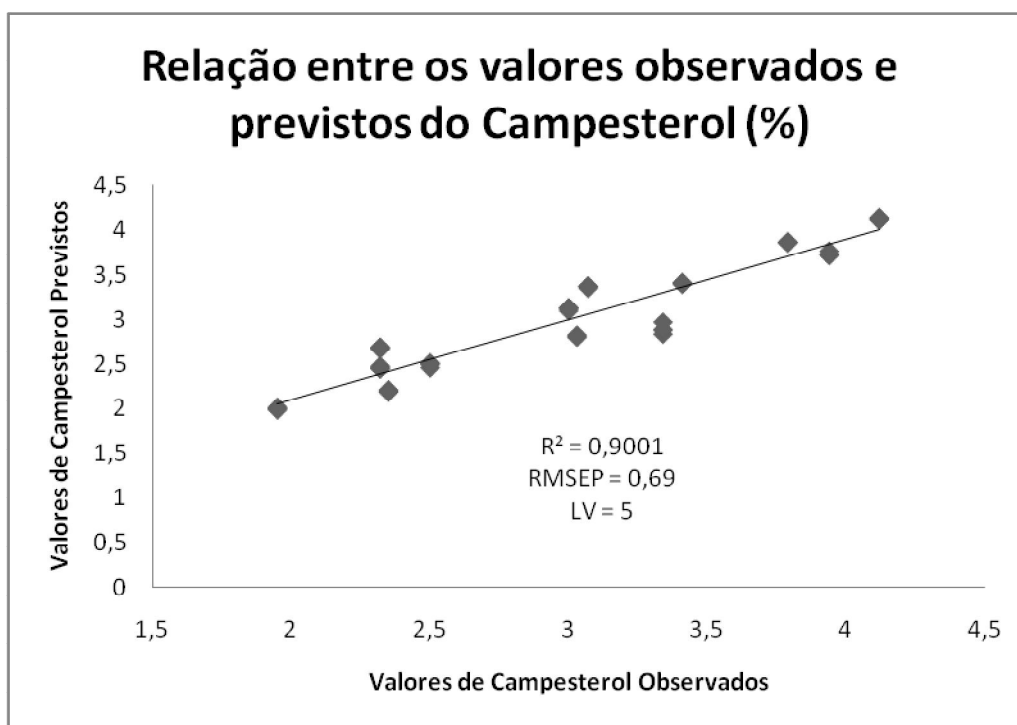


Figura 31: Relação entre os valores observados e previstos do Campesterol

Através da análise da figura 31, verifica-se que o coeficiente de determinação do Campesterol, R^2 , é de 0,9001 e que o erro, RMSEP, atribuído a este parâmetro é de 0,69%, o que indica que o modelo tem um bom poder de previsão.

Os valores de Campesterol do azeite encontram-se entre 1,95% e 4,12%.

O valor de Campesterol deveria ser inferior a 4%, por isso existe uma amostra que se afasta um pouco do valor normal.

O erro deste parâmetro é baixo, uma vez que os valores se encontram todos dentro da mesma gama e distribuídos uniformemente.

Contribuições factoriais ponderadas (LV1)

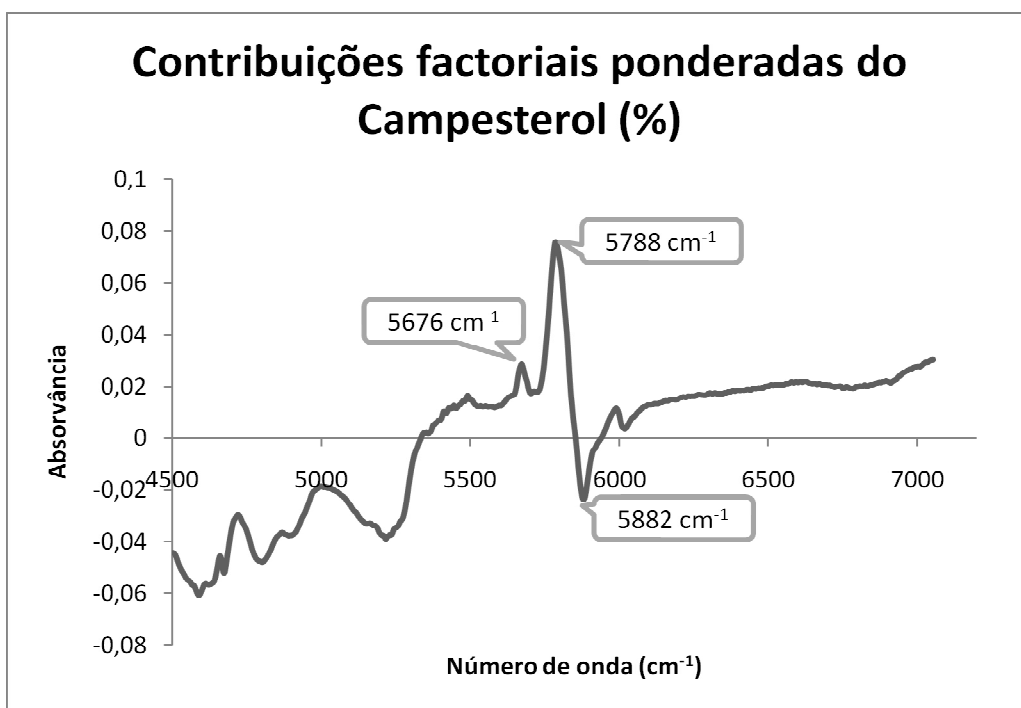


Figura 32: Contribuições factoriais ponderadas do Campesterol

Relativamente à análise do gráfico da figura 32, das contribuições factoriais ponderadas da primeira variável latente do azeite, verifica-se que as bandas de maior intensidade correspondem aos valores de 5882 cm^{-1} , 5788 cm^{-1} e 5676 cm^{-1} .

As região da banda de absorção de 5882 cm^{-1} , a de 5788 cm^{-1} e a de 5676 cm^{-1} devem-se à absorção do grupo $-\text{CH}_2-$ (primeiro sobretom CH).

Observando a estrutura química do campesterol, na figura 33, é possível observar as contribuições factoriais ponderados do campesterol, uma vez que a estrutura deste apresenta diversos grupos $-\text{CH}_2-$.

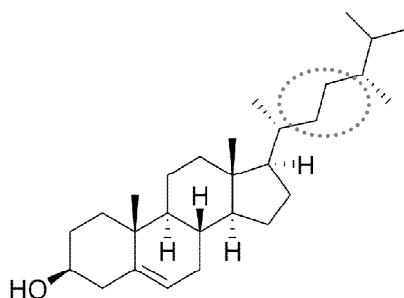


Figura 33: Estrutura química do campesterol com as bandas de absorção assinaladas.

4.8. Quantificação do Estigmasterol

Relação entre os valores observados e previstos

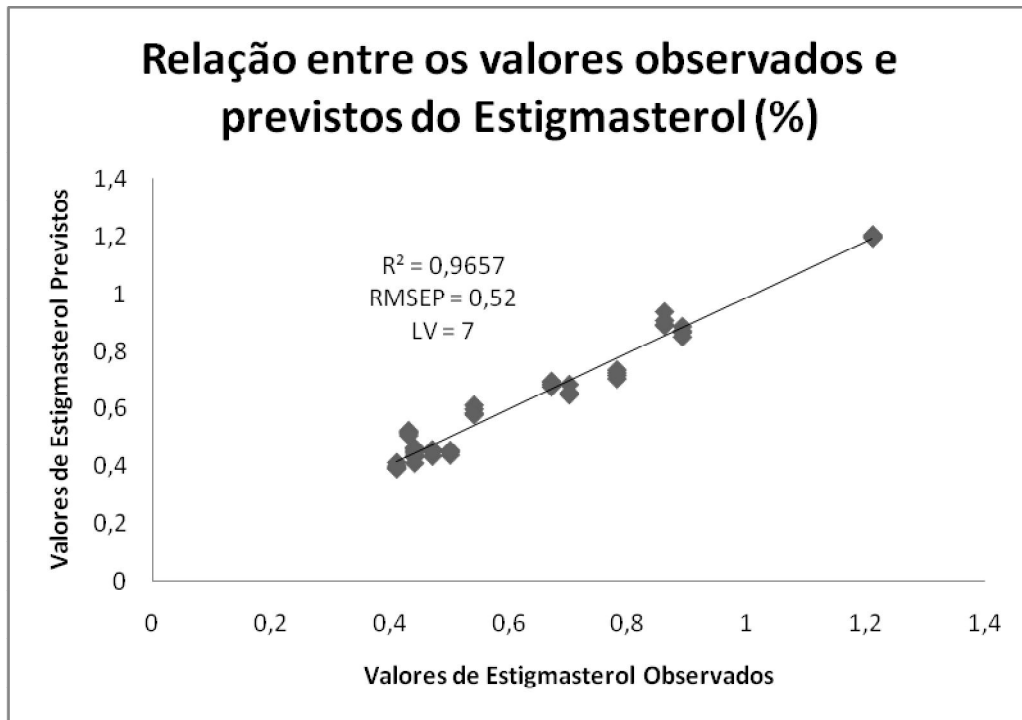


Figura 34: Relação entre os valores observados e previstos do Estigmasterol

Através da análise do gráfico da figura 34, verifica-se que o coeficiente de determinação do Estigmasterol, R^2 , é de 0,9657 e que o erro, RMSEP, atribuído a este parâmetro é de 0,52%.

Os valores de Estigmasterol do azeite encontram-se entre 0,41% e 1,21%.

Uma vez que os valores de Estigmasterol devem ser inferiores aos valores de Campesterol, verifica-se que todas as amostras estavam correctas e que o modelo apresenta um bom poder de previsão.

O erro deste parâmetro é baixo, uma vez que os valores se encontram todos dentro da mesma gama e distribuídos uniformemente.

Contribuições factoriais ponderadas (LV1)

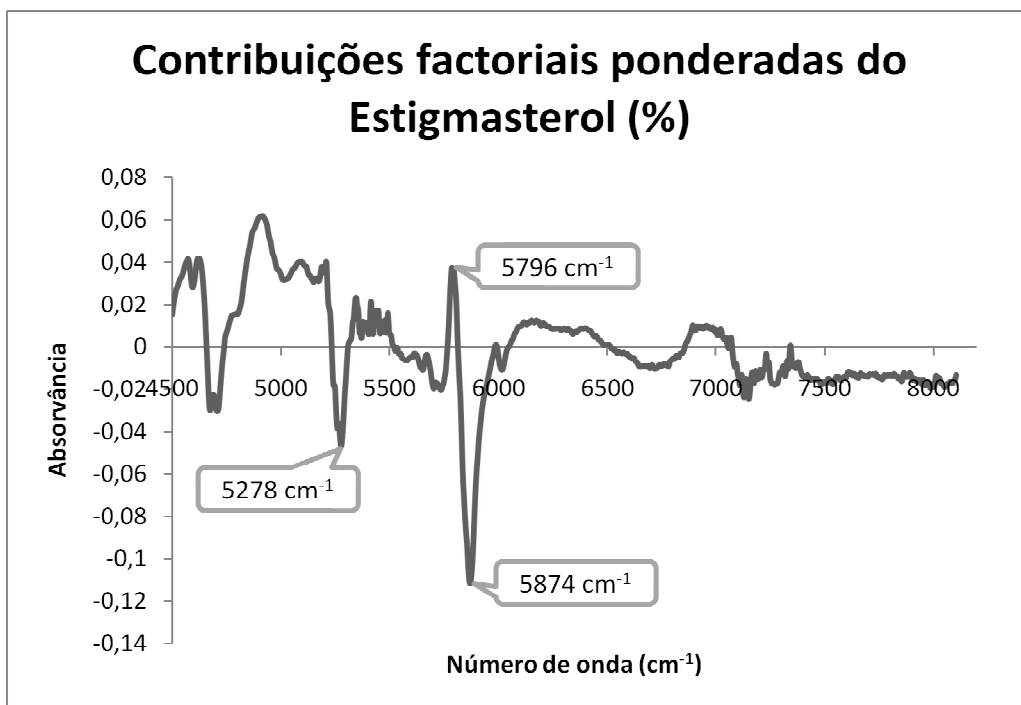


Figura 35: Contribuições factoriais ponderadas do Estigmasterol

Quanto às contribuições factoriais ponderadas da primeira variável latente do azeite, verifica-se que as bandas de maior intensidade correspondem aos valores de 5874 cm^{-1} , 5796 cm^{-1} e 5278 cm^{-1} .

As região da banda de absorção de 5874 cm^{-1} e a de 5796 cm^{-1} estão relacionadas com a absorção do grupo $-\text{CH}_2-$ (primeiro sobretom CH) e a região de 5278 cm^{-1} está relacionada com a absorção do grupo $\text{C}=\text{O}$ alongamento (segundo sobretom).

Observando a estrutura química do estigmasterol, na figura 36, é possível observar as contribuições factoriais ponderados deste, uma vez que o estigmasterol apresenta diversos grupos $-\text{CH}_2-$.

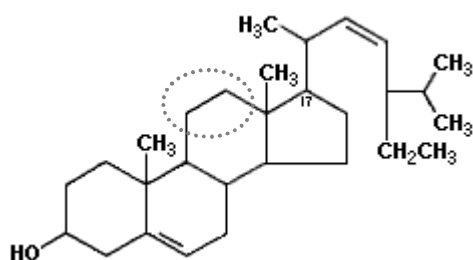


Figura 36: Estrutura química do estigmasterol com as bandas de absorção assinaladas.

4.9. Quantificação do β -Sitosterol

Relação entre os valores observados e previstos

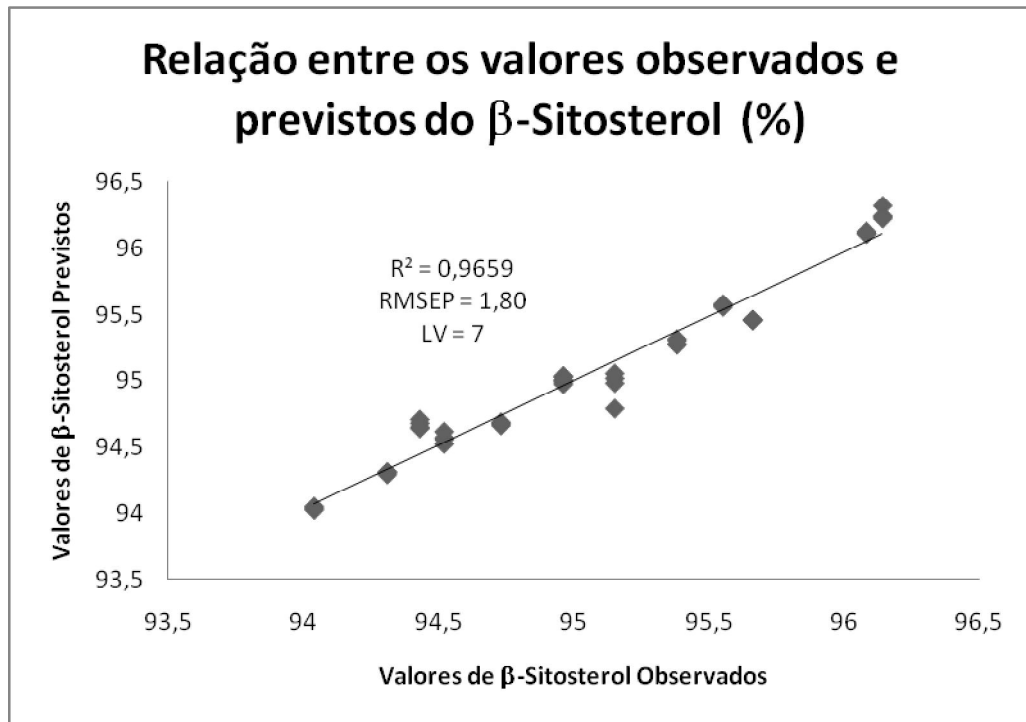


Figura 37: Relação entre os valores observados e previstos do β -Sitosterol

Observando a figura 37, verifica-se que o coeficiente de determinação do β -Sitosterol, R^2 , é de 0,9659 e que o erro, RMSEP, atribuído a este parâmetro é de 1,80%, o que indica que o modelo tem um bom poder de previsão.

Os valores de β -Sitosterol do azeite encontram-se entre 94,04% e 96,14%, o que são valores correctos, pois devem ser superiores a 93%.

O erro deste parâmetro é baixo, uma vez que os valores se encontram todos dentro da mesma gama e distribuídos uniformemente.

Contribuições factoriais ponderadas (LV1)

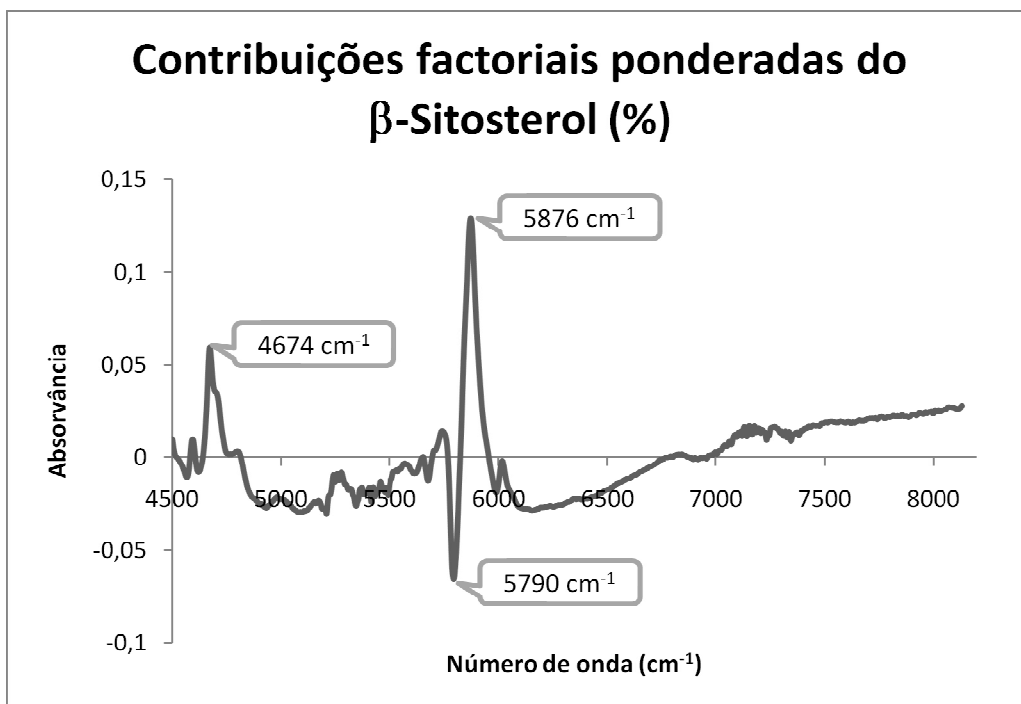


Figura 38: Contribuições factoriais ponderadas do β -Sitosterol

Analizando as contribuições factoriais ponderadas da primeira variável latente do azeite, verifica-se que as bandas de maior intensidade correspondem aos valores de 5876cm^{-1} , 5790cm^{-1} e 4674cm^{-1} .

As região da banda de absorção de 5876cm^{-1} e a de 5790cm^{-1} devem-se à absorção do grupo $-\text{CH}_2-$ (primeiro sobretom CH) e a região de 4674cm^{-1} deve-se à absorção do grupo $-\text{HC}=\text{CH}-$ (alongamento CH + alongamento $\text{C}=\text{C}$).

Analizando a estrutura química do β -Sitosterol, é possível identificar os grupos das bandas de absorção.

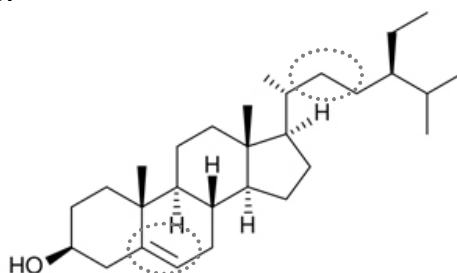
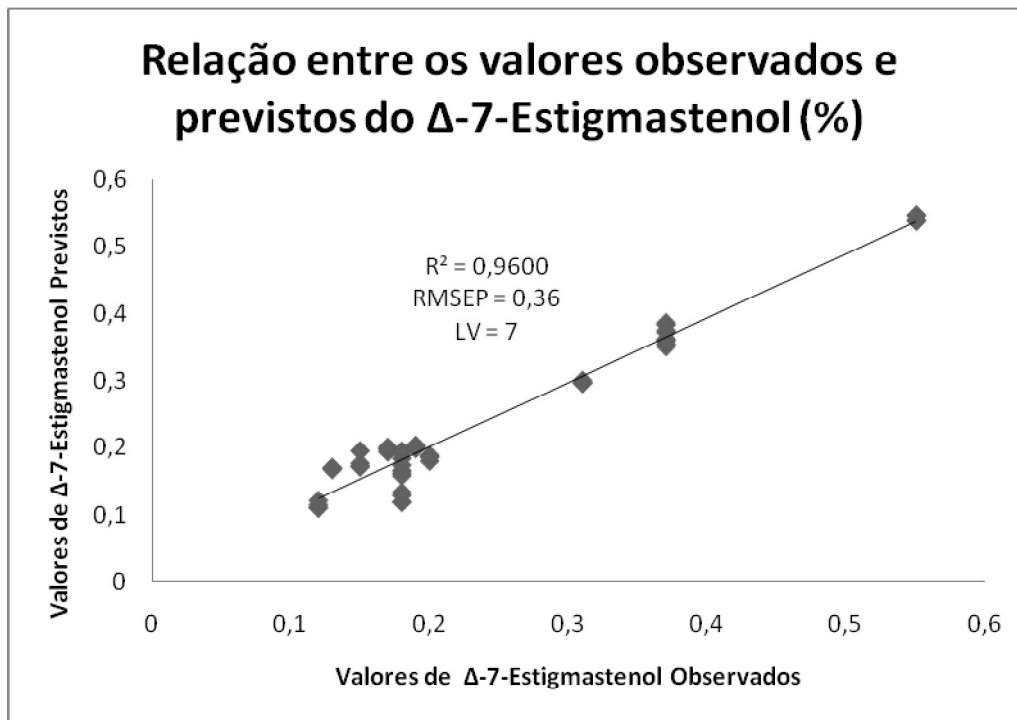


Figura 39: Estrutura química do β -Sitosterol com as bandas de absorção assinaladas.

4.10. Quantificação do Δ -7-Estigmastenol

Relação entre os valores observados e previstos



Contribuições factoriais ponderadas (LV1)

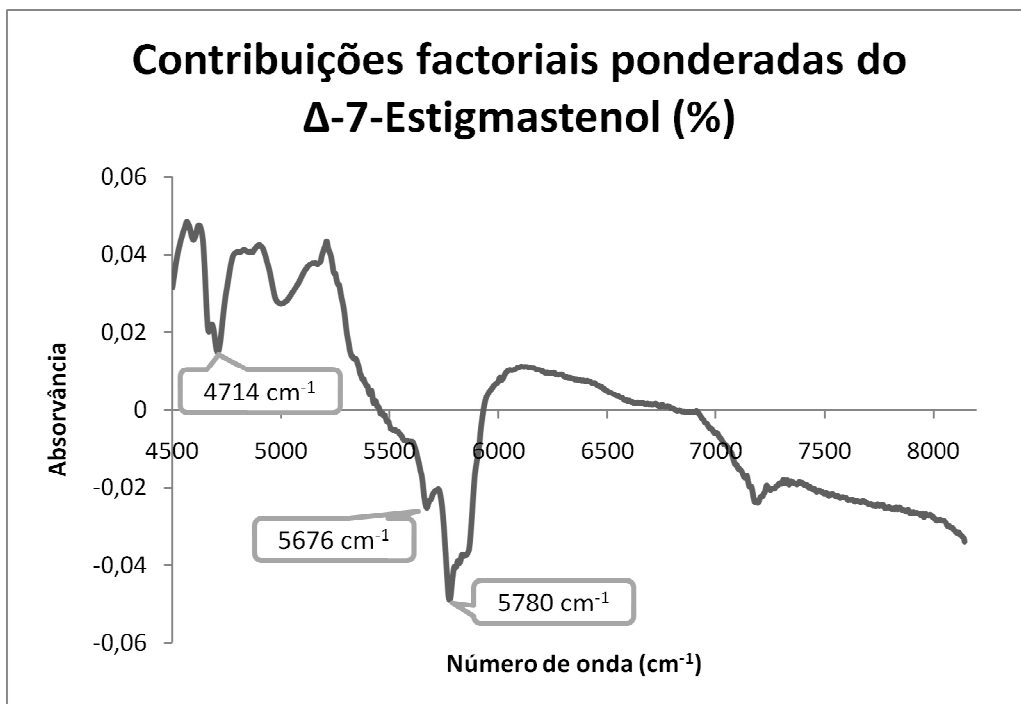


Figura 41: Contribuições factoriais ponderadas do Δ-7-Estigmastenol

Relativamente à análise da figura 41, isto é, das contribuições factoriais ponderadas da primeira variável latente do azeite, verifica-se que as bandas de maior intensidade correspondem aos valores de 5780 cm^{-1} , 5676 cm^{-1} e 4714 cm^{-1} .

As região da banda de absorção de 5780 cm^{-1} e a de 5676 cm^{-1} devem-se à absorção do grupo $-\text{CH}_2-$ (primeiro sobretudo CH) e a região de 4714 cm^{-1} deve-se à absorção do grupo $-\text{COOR}$ (alongamento C-H + alongamento C=C).

Vários grupos $-\text{CH}_2-$ podem ser encontrados na estrutura do Δ-7-Estigmastenol.

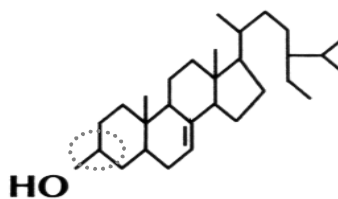


Figura 42: Estrutura química do Δ-7-Estigmastenol com as bandas de absorção assinaladas.

4.11. Quantificação dos Esteróis Totais (mg/kg)

Relação entre os valores observados e previstos

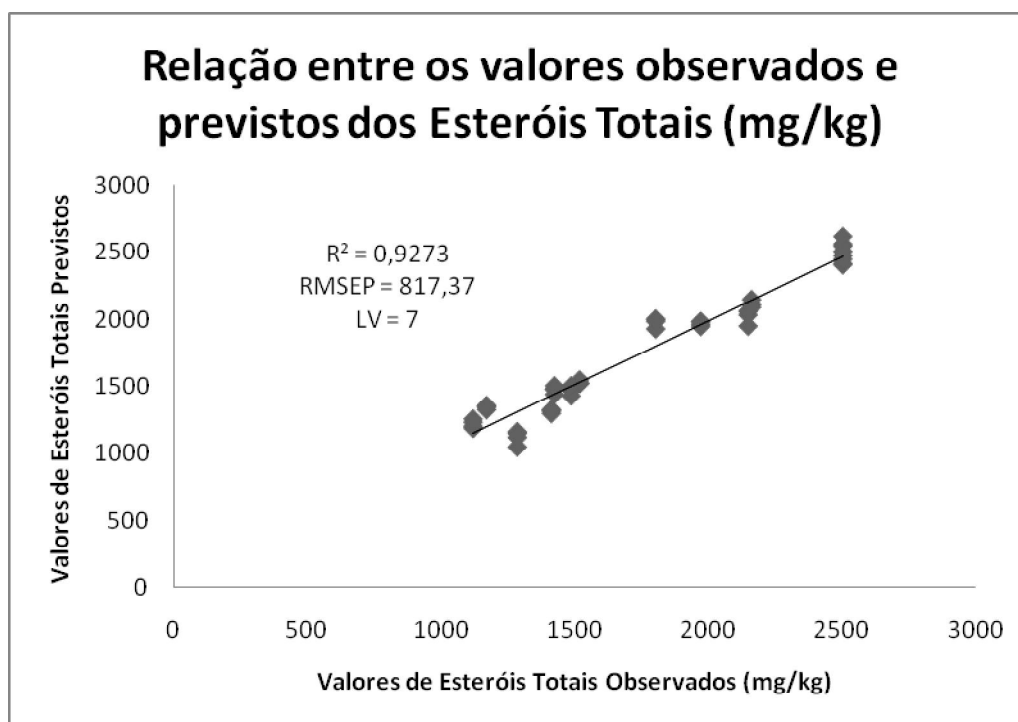


Figura 43: Relação entre os valores observados e previstos dos Esteróis Totais (mg/kg)

Através da análise da relação entre os valores observados e previstos dos Esteróis Totais, verifica-se que o coeficiente de determinação destes, R^2 , é de 0,9273 e que o erro, RMSEP, atribuído a este parâmetro é de 817,37mg/kg.

Os valores de Esteróis Totais do azeite encontram-se entre 1118,58 e 2504,8 mg/kg.

Todas as amostras se encontram dentro do valor óptimo pois este deve ser superior a 1000 mg/kg.

Este modelo tem algum poder de previsão.

Contribuições factoriais ponderadas (LV1)

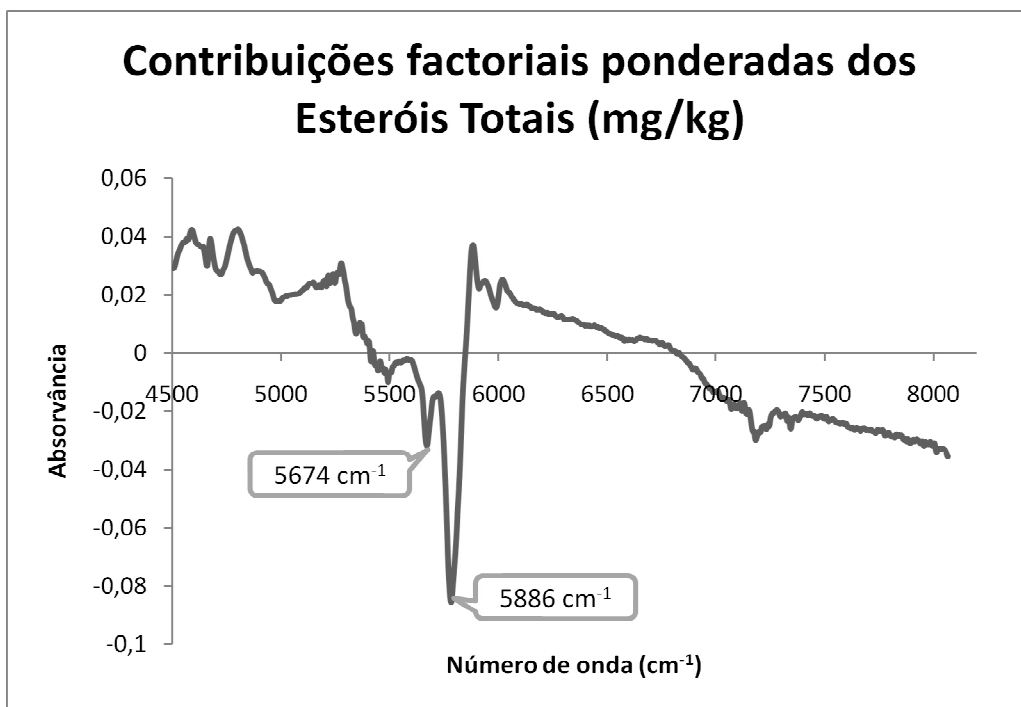


Figura 44: Contribuições factoriais ponderadas dos Esteróis Totais

Relativamente à análise das contribuições factoriais ponderadas da primeira variável latente do azeite, verifica-se que as bandas de maior intensidade correspondem aos valores de 5886 cm⁻¹ e de 5674 cm⁻¹.

As região da banda de absorção de 5886 cm⁻¹ e a de 5674 cm⁻¹ devem-se à absorção do grupo -CH₂- (primeiro sobre o CH).

4.12. Quantificação do Eritrodiol + Uvaol

Relação entre os valores observados e previstos

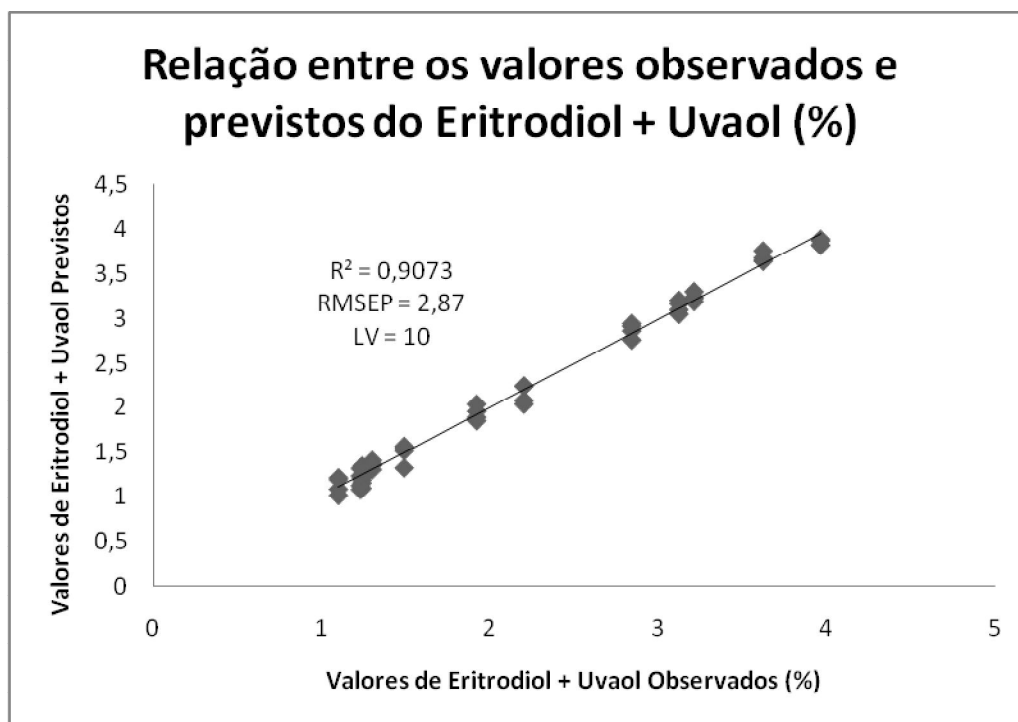


Figura 45: Relação entre os valores observados e previstos do Eritrodiol + Uvaol (%)

Através da análise do gráfico da figura 45, verifica-se que o coeficiente de determinação do Eritrodiol + Uvaol, R^2 , é de 0,9073 e que o erro, RMSEP, atribuído a este parâmetro é de 2,87%. O modelo apresenta um bom poder de previsão.

Os valores de Eritrodiol + Uvaol do azeite encontram-se entre 1,10 e 3,96, o que são valores bons pois devem ser inferiores a 4,5%.

Contribuições factoriais ponderadas (LV1)

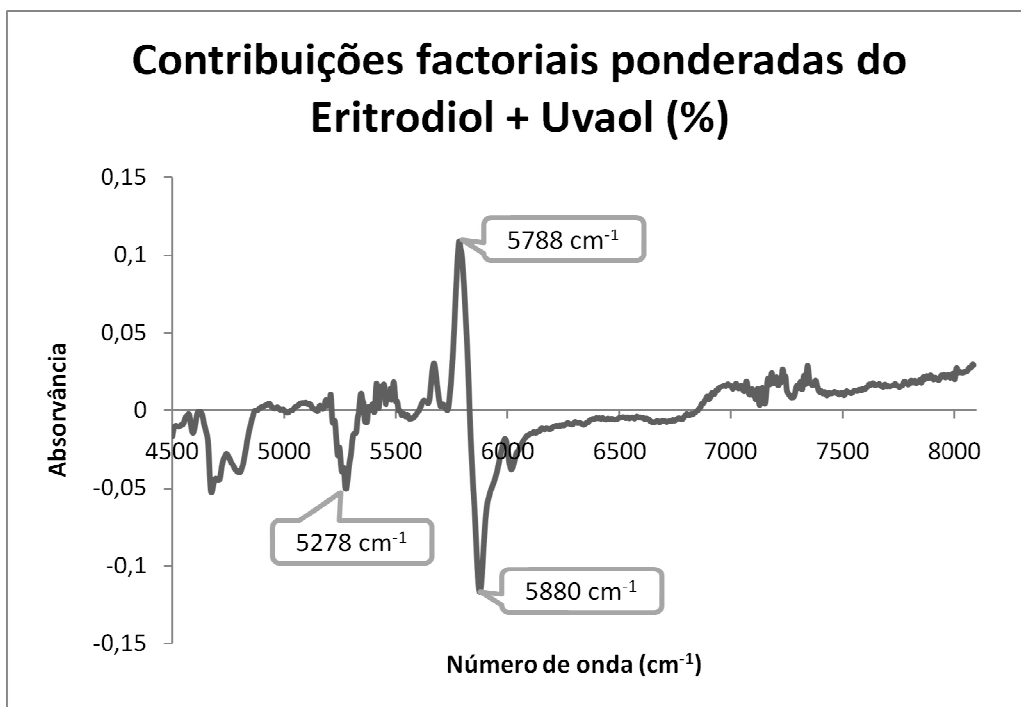


Figura 46: Contribuições factoriais ponderadas do Eritrodiol + Uvaol

Analisando agora as contribuições factoriais ponderadas da primeira variável latente do azeite, verifica-se que as bandas de maior intensidade correspondem aos valores de 5880 cm^{-1} , 5788 cm^{-1} e 5278 cm^{-1} .

As região da banda de absorção de 5880 cm^{-1} e a de 5788 cm^{-1} devem-se à absorção do grupo $-\text{CH}_2-$ (primeiro sobretom CH) e a região de 5278 cm^{-1} deve-se à absorção do alongamento do grupo $\text{C}=\text{O}$ (segundo sobretom).

Como se pode ver através da análise da figura 47, a estrutura química do eritrodiol e do uvaol apresenta vários grupos $-\text{CH}_2-$.



Figura 47: Estrutura química do eritrodiol (a) e do uvaol (b) com algumas bandas de absorção assinaladas.

4.13. Quantificação do Ácido Mirístico

Os valores de Ácido Mirístico do azeite encontram-se entre 0,01% e 0,02%. Como para este ácido só existem dois níveis de concentração, não foi possível construir um modelo.

4.14. Quantificação do Ácido Palmítico

Relação entre os valores observados e previstos

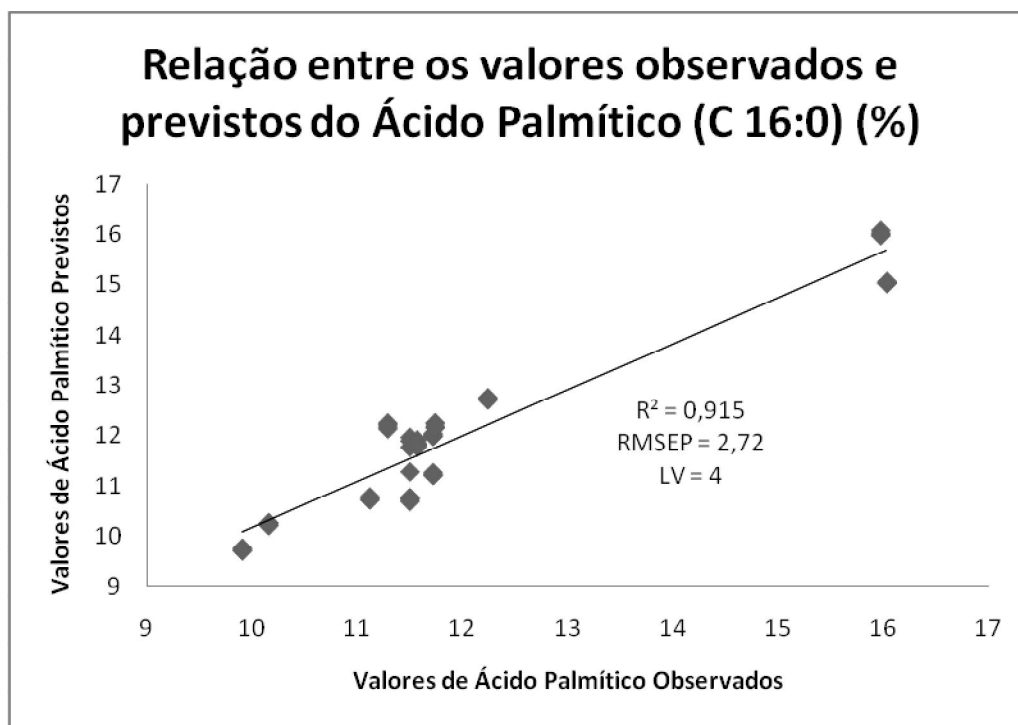


Figura 48: Relação entre os valores observados e previstos do Ácido Palmítico

Analisando a figura 48, verifica-se que o coeficiente de determinação do Ácido Palmítico, R^2 , é de 0,915 e que o erro, RMSEP, atribuído a este parâmetro é de 2,72%, o que indica que o modelo tem um bom poder de previsão.

Os valores de Ácido Palmítico do azeite encontram-se entre 9,51 e 16,03%.

Uma vez que os valores de Ácido Palmítico deverão estar situados entre 7,5 e 20%, todas as amostras se encontram dentro do limite estabelecido.

Contribuições factoriais ponderadas (LV1)

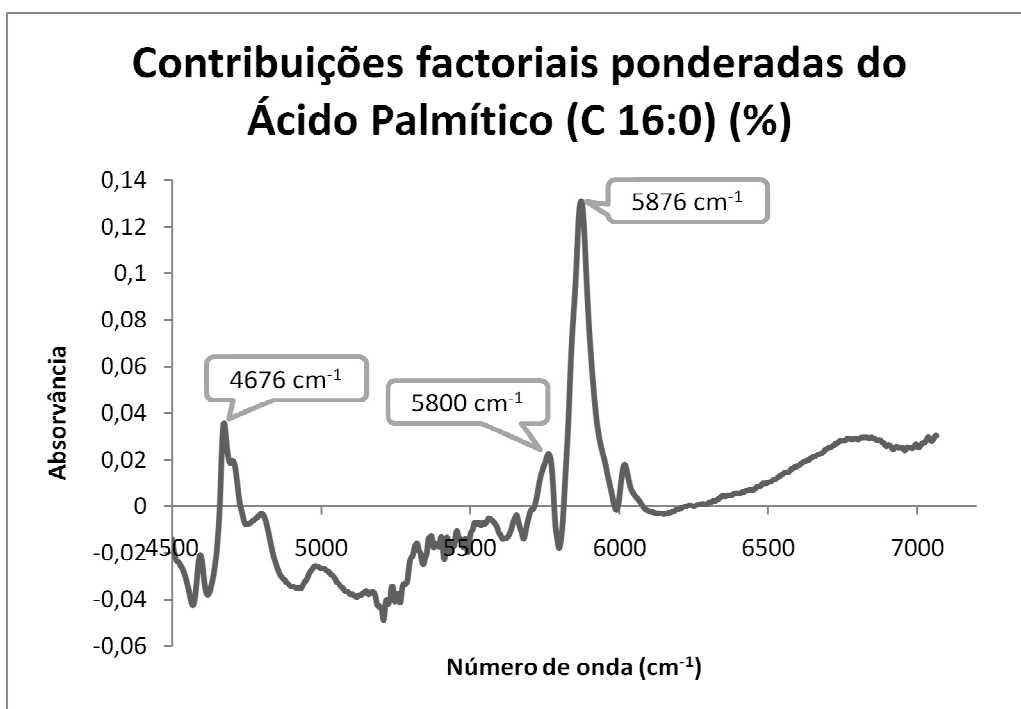


Figura 49: Contribuições factoriais ponderadas do Ácido Palmítico

Analisando a figura 49, das contribuições factoriais ponderadas da primeira variável latente do azeite, verifica-se que as bandas de maior intensidade correspondem aos valores de 5876 cm^{-1} , 5800 cm^{-1} e 4676 cm^{-1} .

As região da banda de absorção de 5876 cm^{-1} e a de 5800 cm^{-1} devem-se à absorção do grupo $-\text{CH}_2-$ (primeiro sobretom CH) e a região de 4676 cm^{-1} deve-se à absorção do grupo $-\text{HC}=\text{CH}-$ (alongamento CH assimétrico + alongamento $\text{C}=\text{C}$).

Tendo em conta a estrutura do ácido palmítico, pode-se apenas justificar a absorção do grupo $-\text{CH}_2-$, visto que este ácido não apresenta ligações duplas.

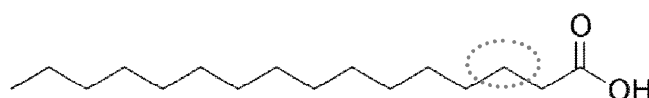


Figura 50: Estrutura química do ácido palmítico com algumas bandas de absorção assinaladas.

4.15. Quantificação do Ácido Palmitoléico

Relação entre os valores observados e previstos

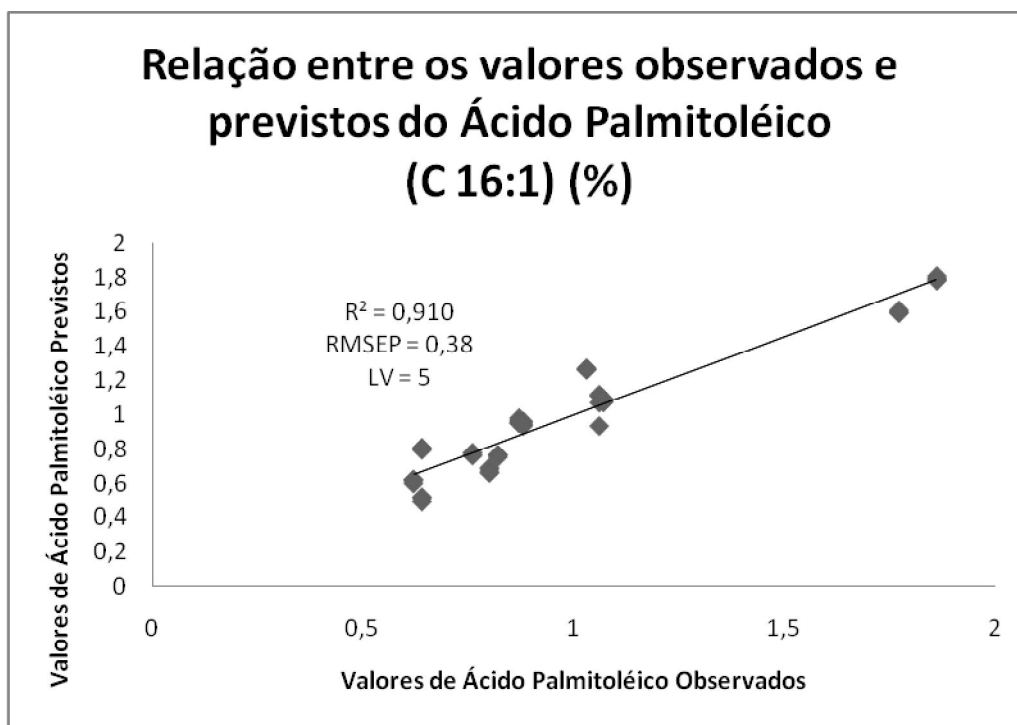


Figura 51: Relação entre os valores observados e previstos do Ácido Palmitoléico

Na figura 51, encontra-se a relação entre os valores observados e previstos do Ácido Palmitoléico e verifica-se que o coeficiente de determinação deste, R^2 , é de 0,910 e que o erro, RMSEP, atribuído a este parâmetro é de 0,38%, o que indica que o modelo tem um bom poder de previsão.

Os valores de Ácido Palmitoléico do azeite encontram-se entre 0,51% e 1,86%, que são valores dentro dos limites estabelecidos (0,3-3,5%).

Contribuições factoriais ponderadas (LV1)

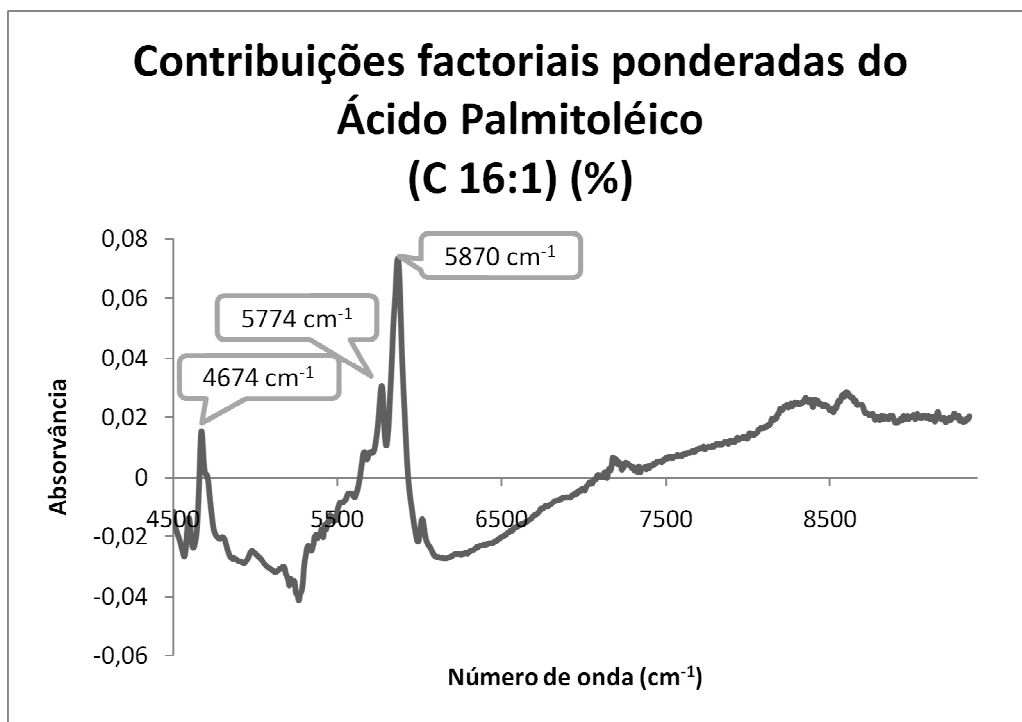


Figura 52: Contribuições factoriais ponderadas do Ácido Palmitoléico

Relativamente à análise das contribuições factoriais ponderadas da primeira variável latente do azeite, verifica-se que as bandas de maior intensidade correspondem aos valores de 5870cm⁻¹, 5774 cm⁻¹ e 4674 cm⁻¹.

As região da banda de absorção de 5870 cm⁻¹ e a de 5774 cm⁻¹ devem-se à absorção do grupo -CH₂- (primeiro sobretudo CH) e a região de 4674 cm⁻¹ deve-se à absorção do grupo -HC=CH- (alongamento CH + alongamento C=C).

Tendo em conta a estrutura do ácido palmitoléico, pode-se justificar a absorção do grupo -CH₂- e do grupo -HC=CH-.

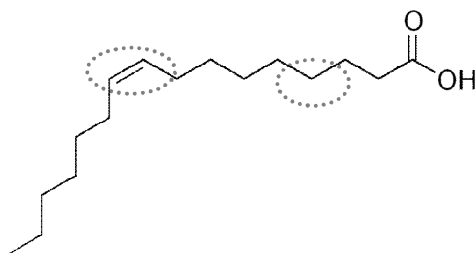


Figura 53: Estrutura química do ácido palmitoléico com as bandas de absorção assinaladas.

4.16. Quantificação do Ácido Heptadecanóico

Relação entre os valores observados e previstos

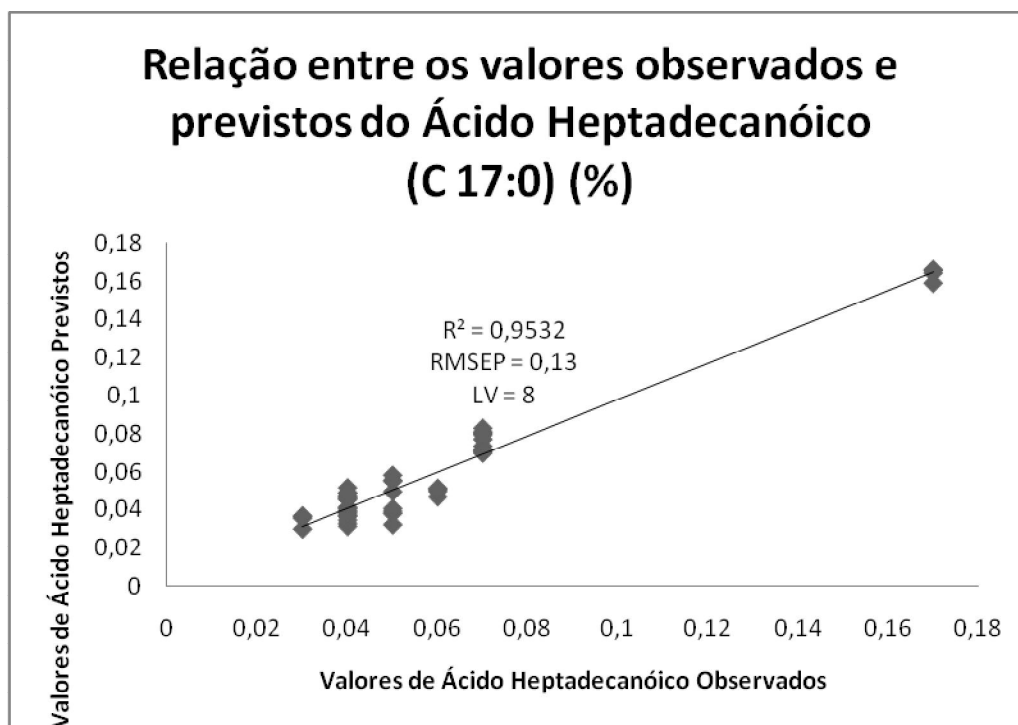


Figura 54: Relação entre os valores observados e previstos do Ácido Heptadecanóico

Analisando o gráfico da figura 54, verifica-se que o coeficiente de determinação do Ácido Heptadecanóico, R^2 , é de 0,9532 e que o erro, RMSEP, atribuído a este parâmetro é de 0,13%.

Os valores de Ácido Heptadecanóico do azeite encontram-se entre 0,03% e 0,17%, o que indica que estão todos correctos uma vez que são inferiores a 0,3 %.

Nota-se ainda a presença de duas amostras afastadas. O modelo ainda não tem um bom poder de previsão.

Contribuições factoriais ponderadas (LV1)

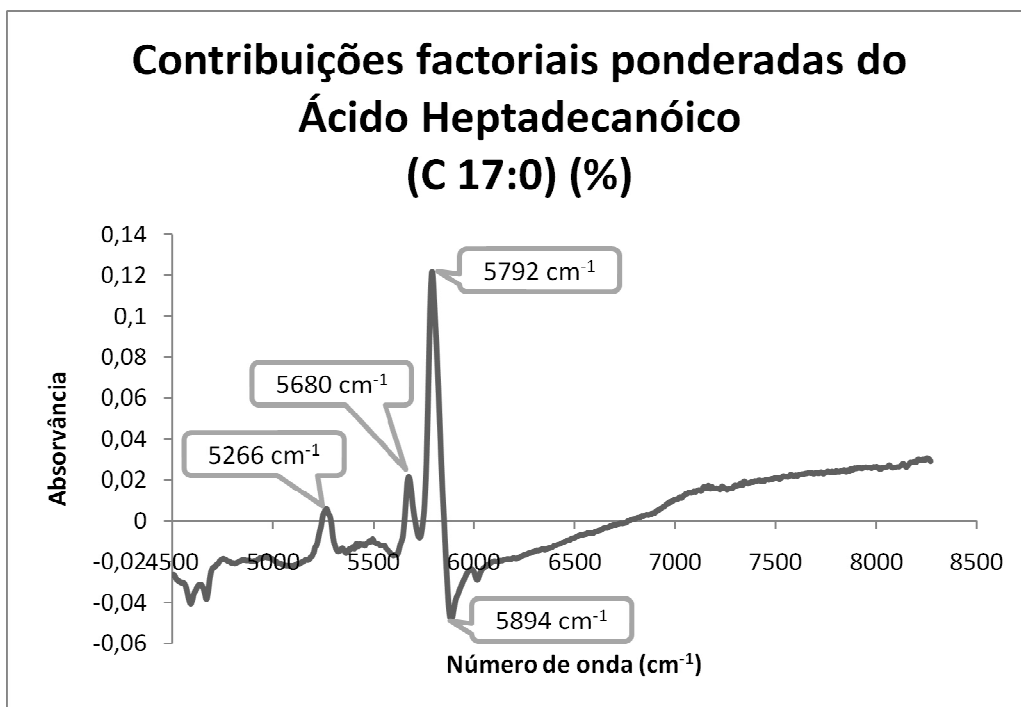


Figura 55: Contribuições factoriais ponderadas do Ácido Heptadecanóico

Analisando a figura 55, das contribuições factoriais ponderadas da primeira variável latente do azeite, verifica-se que as bandas de maior intensidade correspondem aos valores de 5894 cm^{-1} , 5792 cm^{-1} , 5680 cm^{-1} e 5266 cm^{-1} .

As região da banda de absorção de 5894 cm^{-1} , a de 5792 cm^{-1} e a de 5680 cm^{-1} devem-se à absorção do grupo $-\text{CH}_2-$ (primeiro sobretom CH) e a região de 5266 cm^{-1} deve-se à absorção do alongamento do grupo $\text{C}=\text{O}$ (segundo sobretom).

Tendo em conta a estrutura do ácido heptadecanóico, pode-se justificar a absorção do grupo $-\text{CH}_2-$ e do grupo $\text{C}=\text{O}$.

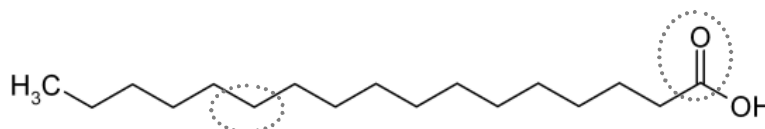


Figura 56: Estrutura química do ácido heptadecanóico com as bandas de absorção assinaladas.

4.17. Quantificação do Ácido Heptadecenóico

Relação entre os valores observados e previstos

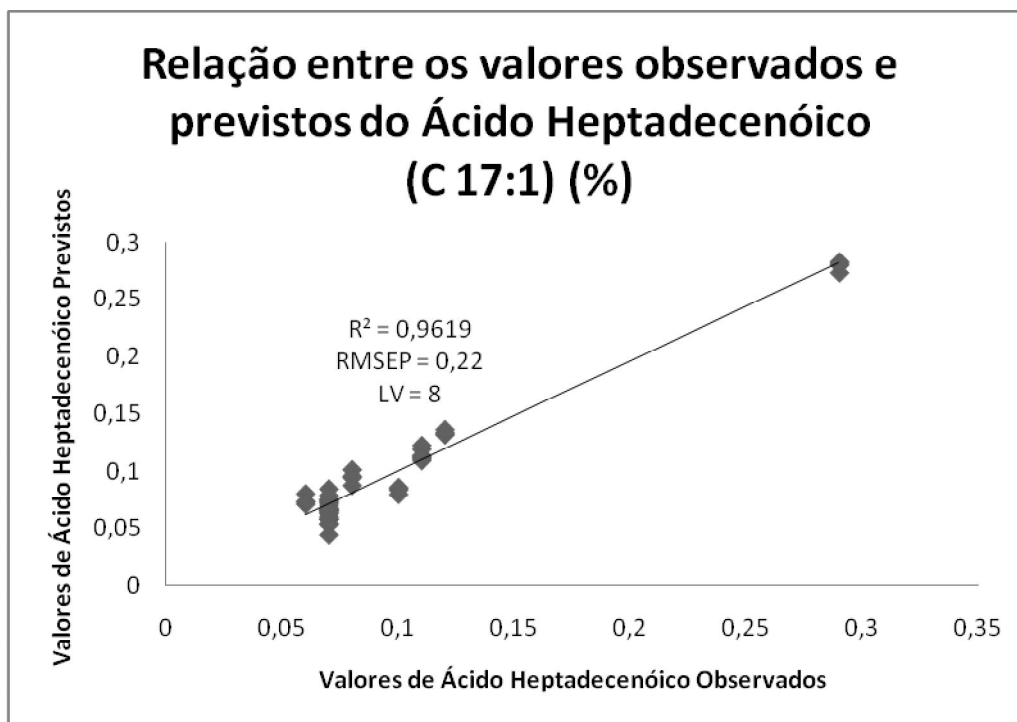


Figura 57: Relação entre os valores observados e previstos do Ácido Heptadecenóico

Através da análise do gráfico da figura 57, verifica-se que o coeficiente de determinação do Ácido Heptadecenóico, R^2 , é de 0,9619 e que o erro, RMSEP, atribuído a este parâmetro é de 0,22%.

Os valores de Ácido Heptadecenóico do azeite encontram-se entre 0,05% e 0,29%. Uma vez que estes devem ser inferiores a 0,3%, estão todos dentro dos limites.

Nota-se ainda a presença de duas amostras afastadas. O modelo ainda não tem um bom poder de previsão.

Contribuições factoriais ponderadas (LV1)

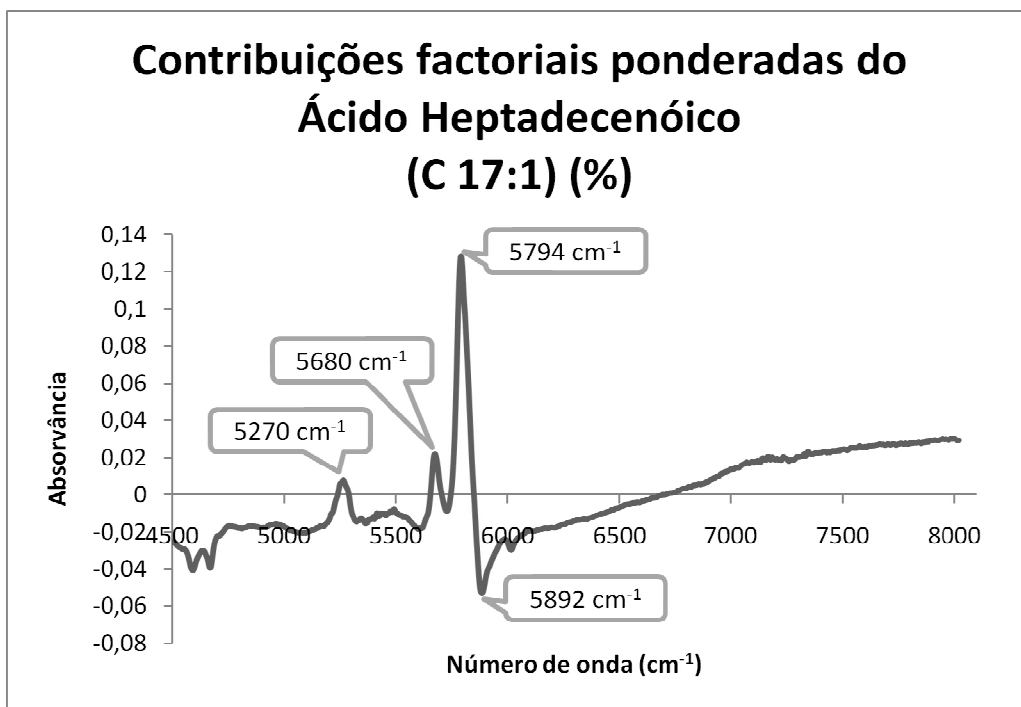


Figura 58: Contribuições factoriais ponderadas do Ácido Heptadecenóico

Relativamente à análise das contribuições factoriais ponderadas da primeira variável latente do azeite, verifica-se que as bandas de maior intensidade correspondem aos valores de 5892 cm⁻¹, 5794 cm⁻¹, 5680 cm⁻¹ e 5270 cm⁻¹.

As região da banda de absorção de 5892 cm⁻¹, a de 5794 cm⁻¹ e a de 5680 cm⁻¹ devem-se à absorção do grupo –CH₂– (primeiro sobretom CH) e a região de 5270 cm⁻¹ deve-se à absorção do alongamento do grupo C=O (segundo sobretom).

Tendo em conta a estrutura do ácido heptadecenóico, pode-se justificar a absorção do grupo –CH₂– e do grupo C=O.

4.18. Quantificação do Ácido Esteárico

Relação entre os valores observados e previstos

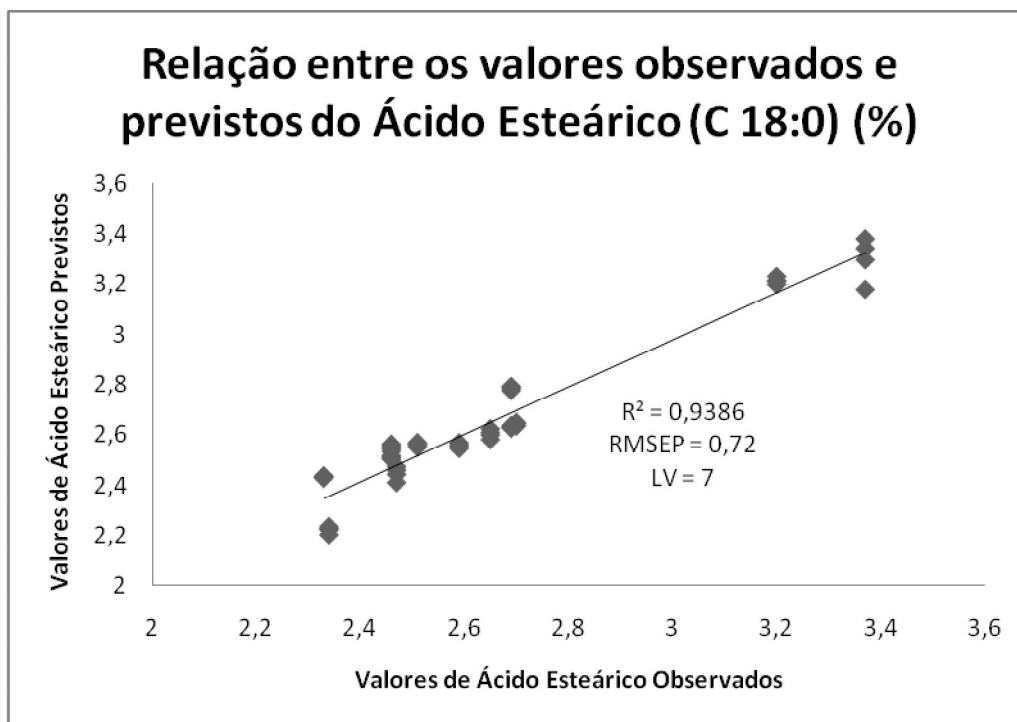


Figura 59: Relação entre os valores observados e previstos do Ácido Esteárico

Através da análise do gráfico da figura 48, verifica-se que o coeficiente de determinação do Ácido Esteárico, R^2 , é de 0,9386 e que o erro, RMSEP, atribuído a este parâmetro é de 0,72%, o que indica que o modelo tem um bom poder de previsão.

Os valores de Ácido esteárico do azeite encontram-se entre 2,33% e 3,37%. Tendo em conta que os valores óptimos de encontram entre 0,5 e 5,0%, não existe nenhuma amostra atípica.

Contribuições factoriais ponderadas (LV1)

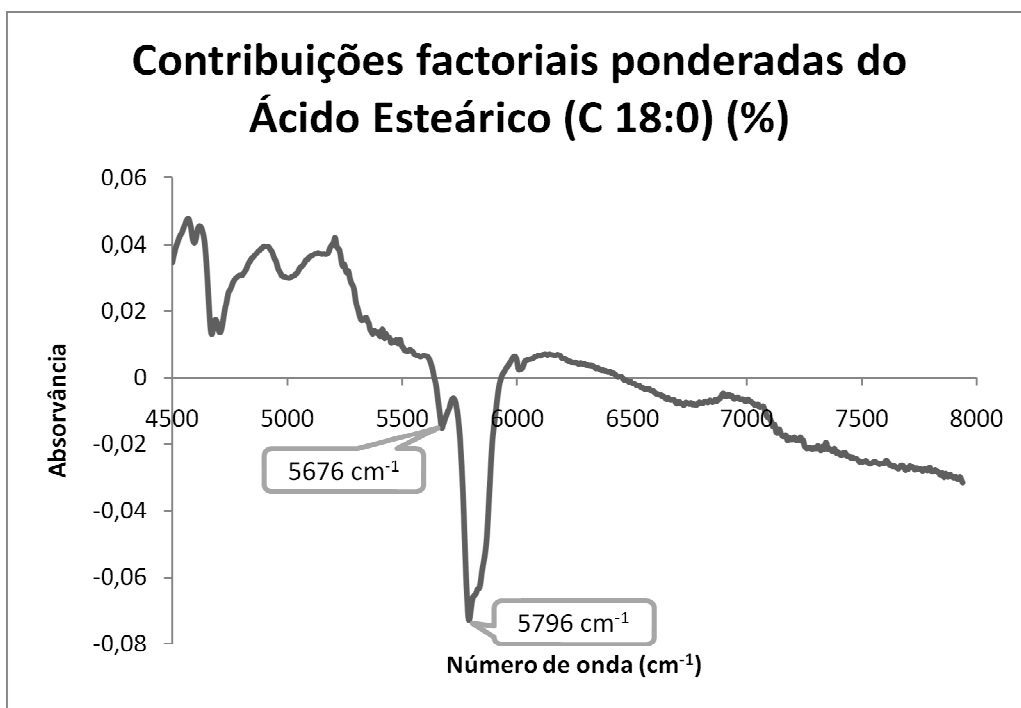


Figura 60: Contribuições factoriais ponderadas do Ácido Esteárico

Analisando agora o gráfico das contribuições factoriais ponderadas da primeira variável latente do azeite, verifica-se que as bandas de maior intensidade correspondem aos valores de 5796 cm^{-1} e 5676 cm^{-1} .

As região da banda de absorção de 5796 cm^{-1} e a de 5676 cm^{-1} devem-se à absorção do grupo $-\text{CH}_2-$ (primeiro sobretom CH).

Tendo em conta a estrutura do ácido heptadecenóico, pode-se justificar a absorção do grupo $-\text{CH}_2-$.

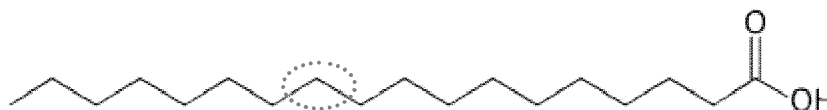


Figura 61: Estrutura química do ácido esteárico com as bandas de absorção assinaladas.

Relação entre os valores observados e previstos

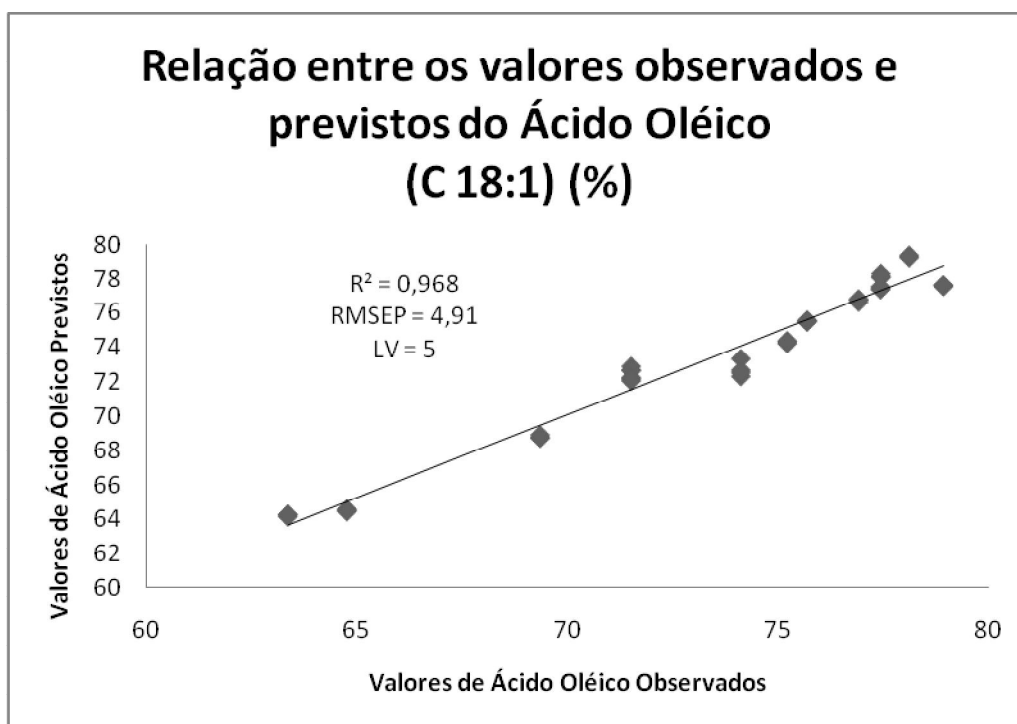


Figura 62: Relação entre os valores observados e previstos do Ácido Oléico

Através da análise da relação entre os valores observados e previstos do Ácido Oléico, verifica-se que o coeficiente de determinação deste, R^2 , é de 0,968 e que o erro, RMSEP, atribuído a este parâmetro é de 4,91, o que sugere que o modelo tem poder de previsão.

Os valores de Ácido Oléico do azeite encontram-se entre 63,38 e 79,82%, ou seja, encontram-se entre os valores estabelecidos por lei (55-83%).

Contribuições factoriais ponderadas (LV1)

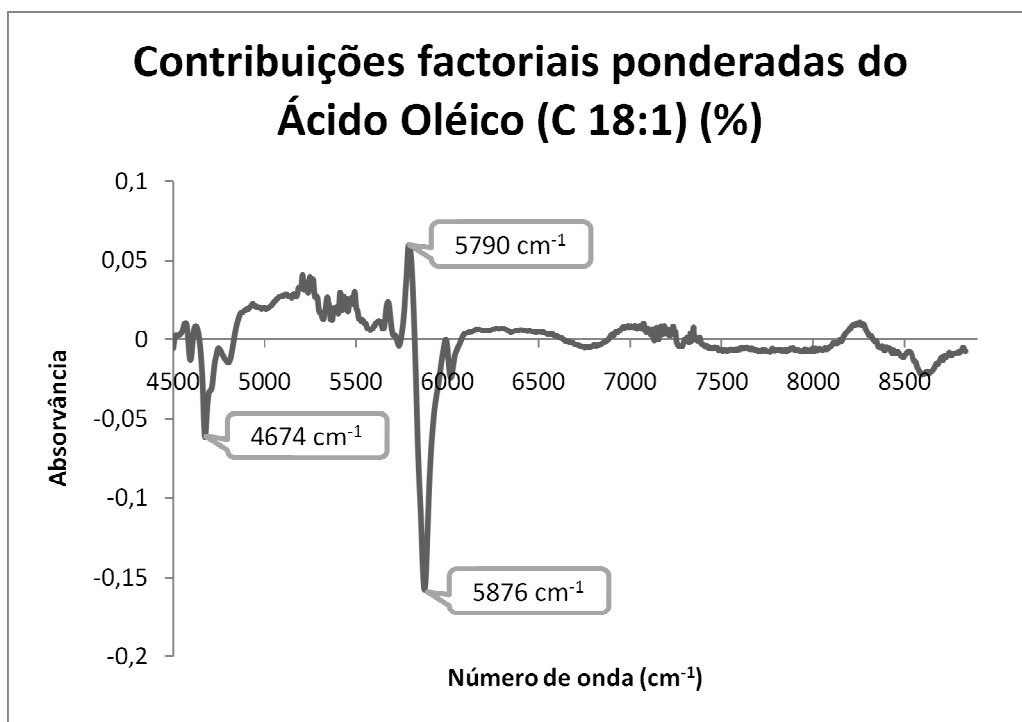


Figura 63: Contribuições factoriais ponderadas do Ácido Oléico

Relativamente à análise das contribuições factoriais ponderadas da primeira variável latente do azeite, verifica-se que as bandas de maior intensidade correspondem aos valores de 5876cm^{-1} , 5790cm^{-1} e 4674cm^{-1} .

As região da banda de absorção de 5876cm^{-1} e a de 5790cm^{-1} devem-se à absorção do grupo $-\text{CH}_2-$ (primeiro sobretom CH) e a região de 4674cm^{-1} deve-se à absorção do grupo $-\text{HC}=\text{CH}-$ (alongamento CH + alongamento $\text{C}=\text{C}$).

Analisando a estrutura do ácido oléico, que se encontra na figura 64, pode-se justificar a absorção do grupo $-\text{CH}_2-$ e do grupo $-\text{HC}=\text{CH}-$.

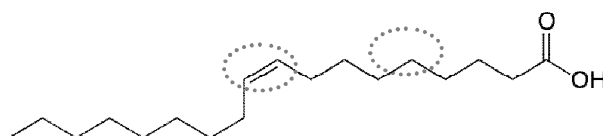


Figura 64: Estrutura química do ácido oléico com as bandas de absorção assinaladas.

4.20. Quantificação do Ácido Linoléico

Relação entre os valores observados e previstos

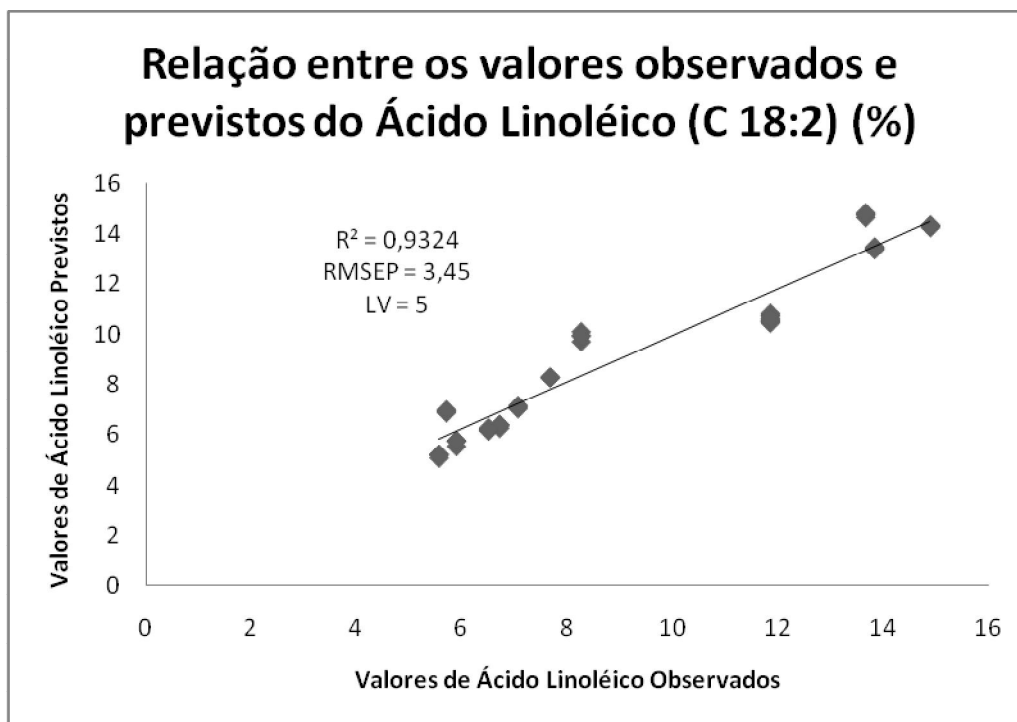


Figura 65: Relação entre os valores observados e previstos do Ácido Linoléico

Através da análise do gráfico da figura 65, verifica-se que o coeficiente de determinação do Ácido Linoléico, R^2 , é de 0,9324 e que o erro, RMSEP, atribuído a este parâmetro é de 3,45%, o que indica que o modelo tem um bom poder de previsão.

Os valores de Ácido Linoléico do azeite encontram-se entre 5,18 e 14,89%.

Teoricamente, os valores de Ácido Linoléico devem estar entre 3,5 e 21%. Como isto acontece, as amostras estão todas correctas.

Contribuições factoriais ponderadas (LV1)

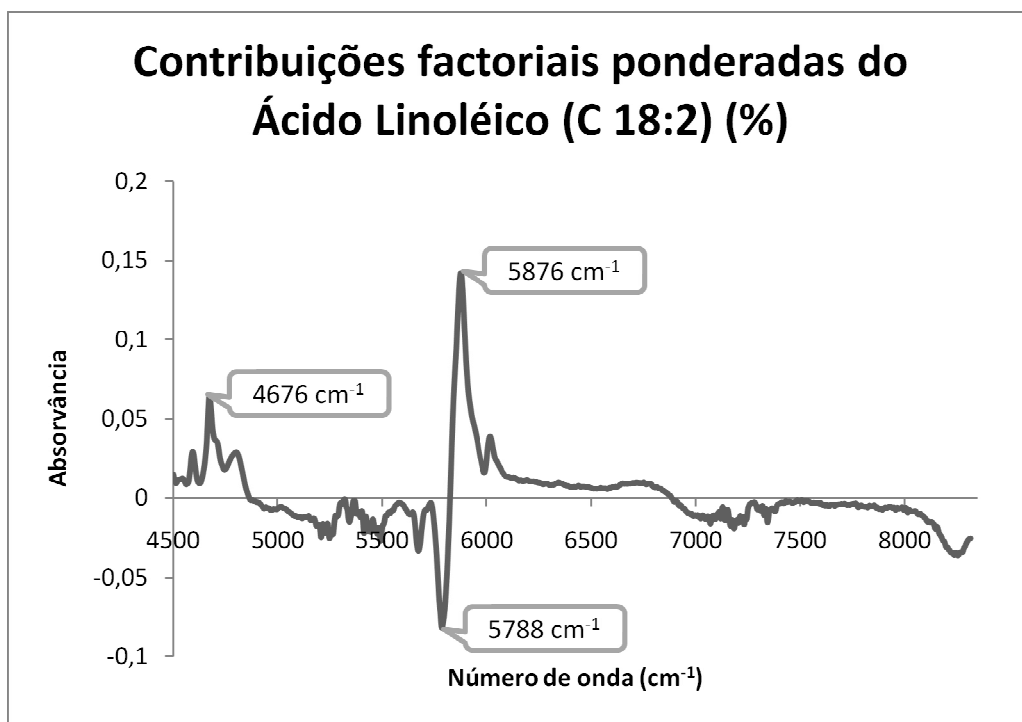


Figura 66: Contribuições factoriais ponderadas do Ácido Linoléico

Relativamente à análise da figura 66, verifica-se que as bandas de maior intensidade correspondem aos valores de 5876 cm^{-1} , 5788 cm^{-1} e 4676 cm^{-1} .

As região da banda de absorção de 5876 cm^{-1} e a de 5788 cm^{-1} devem-se à absorção do grupo $-\text{CH}_2-$ (primeiro sobretudo CH) e a região de 4676 cm^{-1} deve-se à absorção do grupo $-\text{HC}=\text{CH}-$ (alongamento CH + alongamento $\text{C}=\text{C}$).

Analisando a estrutura do ácido linoléico, pode-se justificar a absorção do grupo $-\text{CH}_2-$ e do grupo $-\text{HC}=\text{CH}-$.

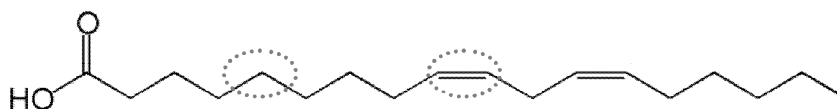


Figura 67: Estrutura química do ácido linoléico com as bandas de absorção assinaladas.

4.21. Quantificação do Linolénico

Relação entre os valores observados e previstos

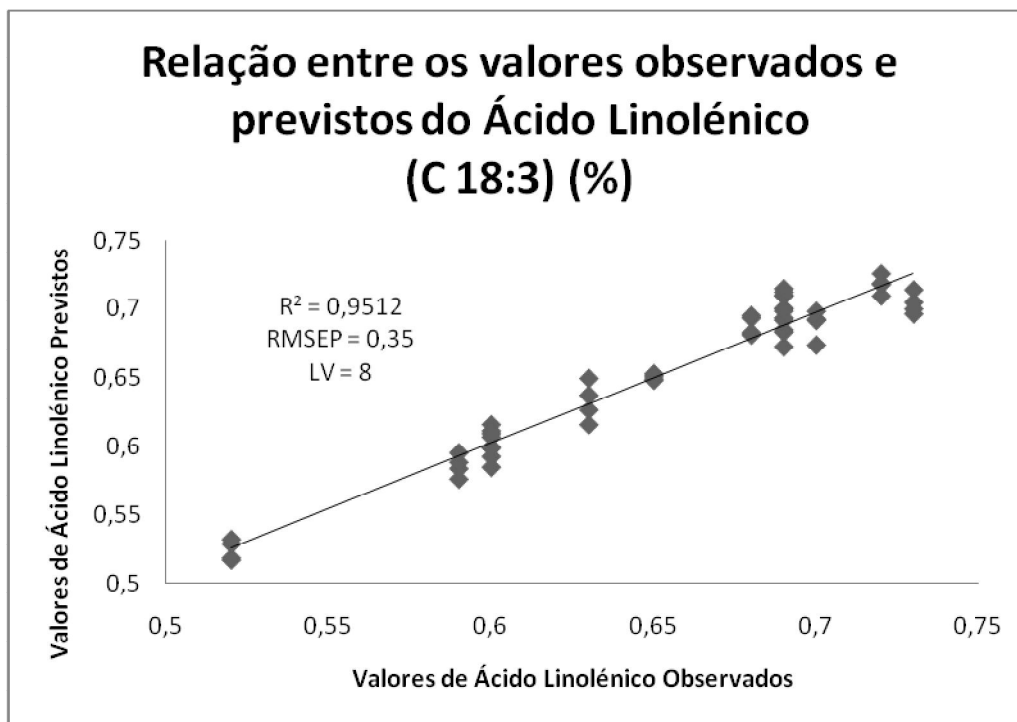


Figura 68: Relação entre os valores observados e previstos do Ácido Linolénico

Analisando a figura 68, verifica-se que o coeficiente de determinação do Ácido Linolénico, R^2 , é de 0,9512 e que o erro, RMSEP, atribuído a este parâmetro é de 0,35%, o que indica que o modelo ainda não tem bom poder de previsão.

Os valores de Ácido Linolénico do azeite encontram-se entre 0,50% e 0,73%, que são valores inferiores a 1%, logo não existem amostras atípicas.

Contribuições factoriais ponderadas (LV1)

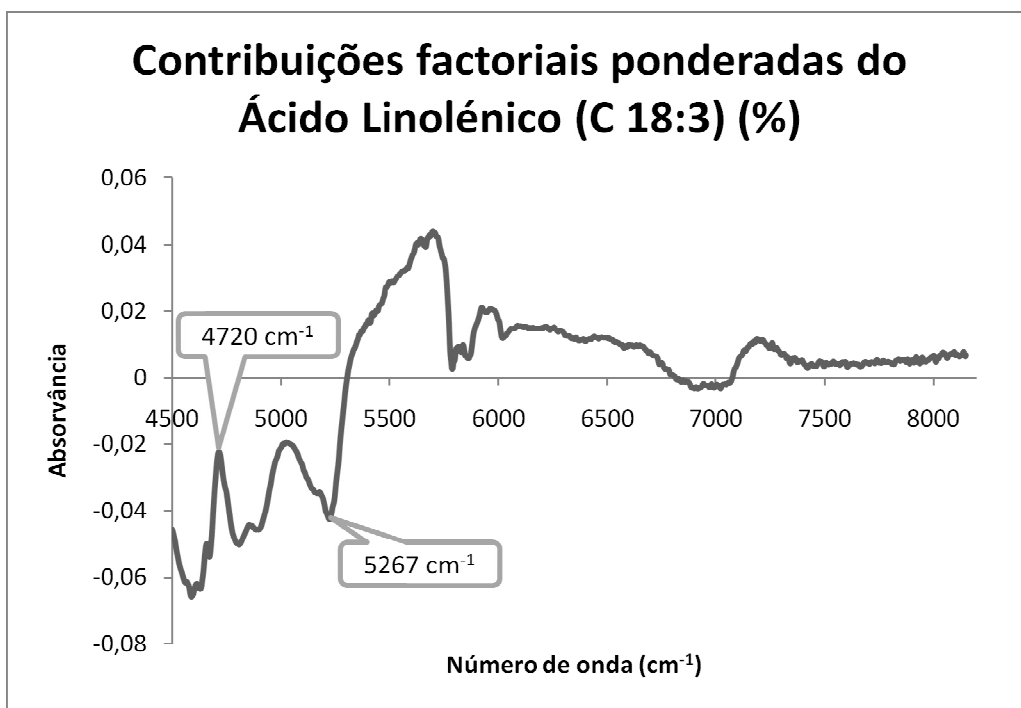


Figura 69: Contribuições factoriais ponderadas do Ácido Linolénico

Relativamente à análise da figura 69, as contribuições factoriais ponderadas da primeira variável latente do azeite, verifica-se que o pico de maior intensidade corresponde ao valor de 4720 cm^{-1} e de 5267 cm^{-1} .

A região da banda de absorção de 4720 cm^{-1} deve-se à absorção do grupo $-\text{COOR}$ (alongamento C-H + alongamento C=O) e a banda de absorção de 5267 cm^{-1} deve-se à absorção do grupo C=O (segundo sobretom).

Analizando a estrutura do ácido linolénico, pode-se justificar a absorção do grupo $-\text{COOR}$ e do grupo $-\text{HC}=\text{CH}-$. O grupo carbonilo no éster ($-\text{COOR}$) é um grupo típico dos ácidos gordos nos triglicerídeos.

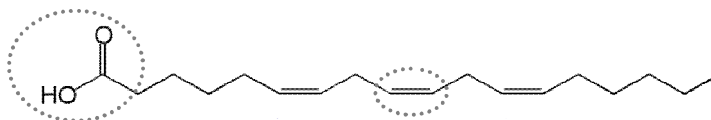


Figura 70: Estrutura química do ácido linolénico com as bandas de absorção assinaladas.

4.22. Quantificação do Ácido Araquídico

Relação entre os valores observados e previstos

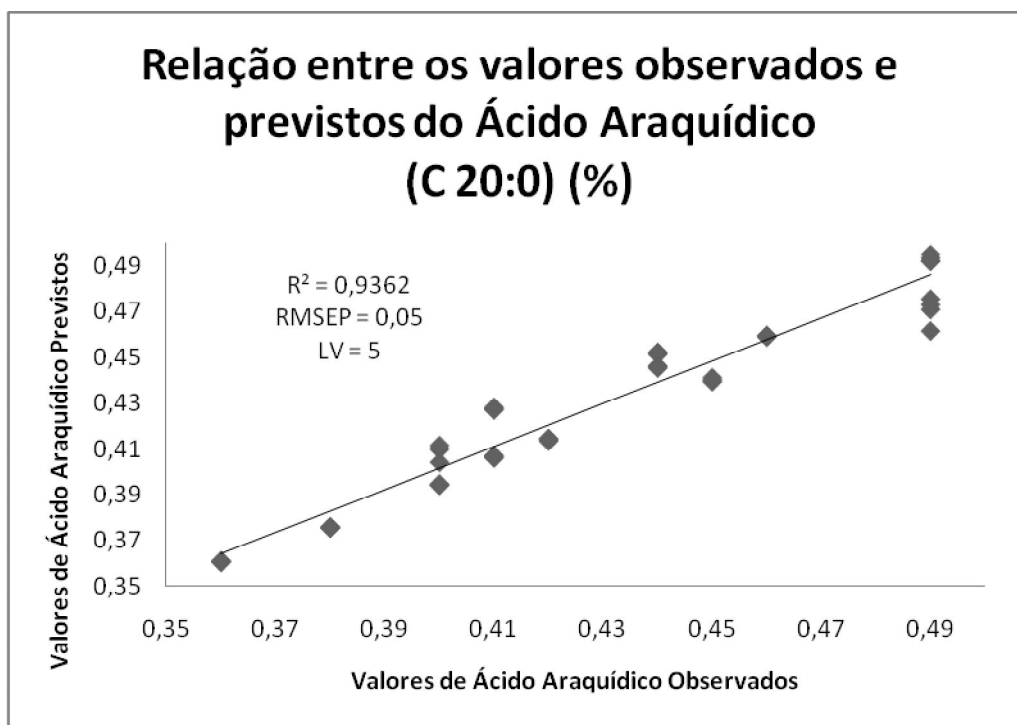


Figura 71: Relação entre os valores observados e previstos do Ácido Araquídico

Na figura 71, encontra-se a relação entre os valores observados e previstos do Ácido Araquídico e através da análise da mesma, verifica-se que o coeficiente de determinação do Ácido Araquídico, R^2 , é de 0,9362 e que o erro, RMSEP, atribuído a este parâmetro é de 0,05%, o que indica que o modelo tem um bom poder de previsão.

Os valores de Ácido Araquídico do azeite encontram-se entre 0,36% e 0,49%, ou seja, são todos inferiores a 0,6%, o que é um valor ótimo.

Contribuições factoriais ponderadas (LV1)

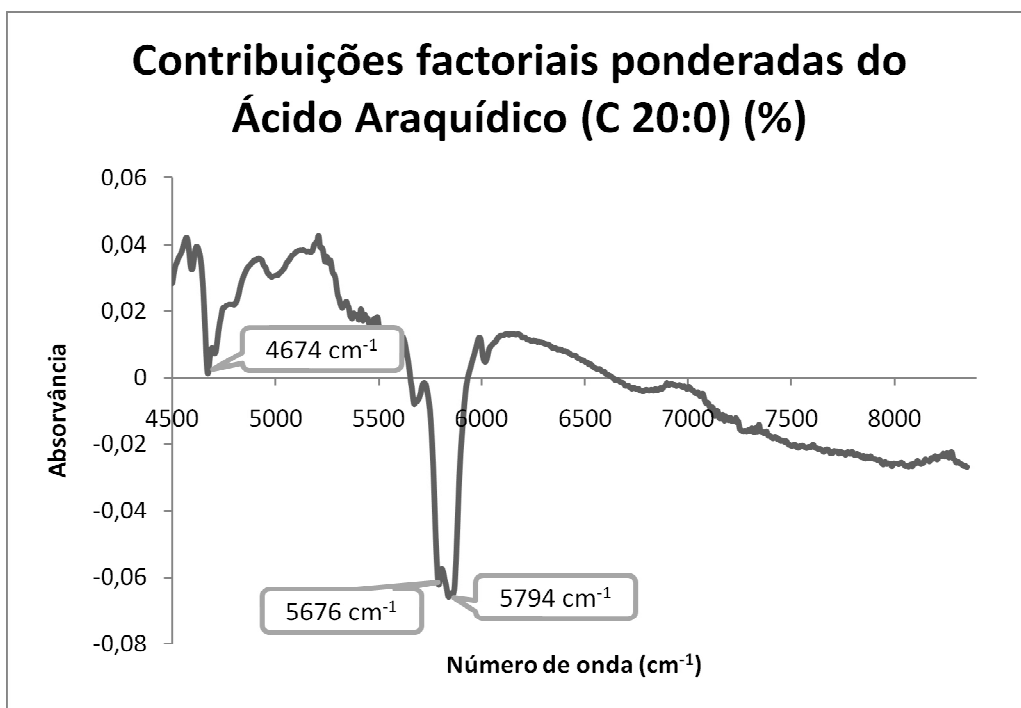


Figura 72: Contribuições factoriais ponderadas do Ácido Araquídico

Relativamente à análise da figura 72, das contribuições factoriais ponderadas da primeira variável latente do azeite, verifica-se que as bandas de maior intensidade correspondem aos valores de 5794 cm^{-1} , 5676 cm^{-1} e 4674 cm^{-1} .

As região da banda de absorção de 5794 cm^{-1} e a de 5676 cm^{-1} devem-se à absorção do grupo $-\text{CH}_2-$ (primeiro sobretudo CH) e a região de 4674 cm^{-1} deve-se à absorção do grupo $-\text{HC}=\text{CH}-$ (alongamento CH + alongamento $\text{C}=\text{C}$).

Tendo em conta a estrutura do ácido araquídico, pode-se apenas justificar a absorção do grupo $-\text{CH}_2-$, visto que este ácido não apresenta ligações duplas.

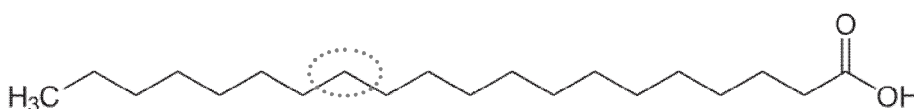


Figura 73: Estrutura química do ácido araquídico com algumas bandas de absorção assinaladas.

4.23. Quantificação do Ácido Eicosanóico

Relação entre os valores observados e previstos

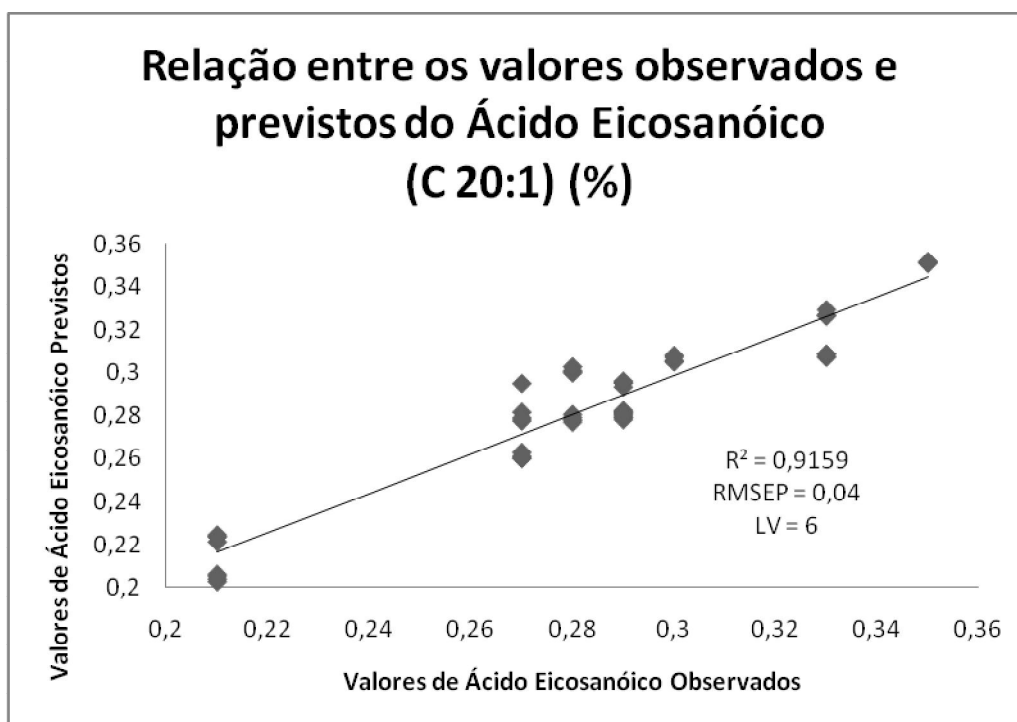


Figura 74: Relação entre os valores observados e previstos do Ácido Eicosanóico

Através da análise do gráfico da figura 74, verifica-se que o coeficiente de determinação do Ácido Eicosanóico, R^2 , é de 0,9159 e que o erro, RMSEP, atribuído a este parâmetro é de 0,04%, o que indica que o modelo tem algum poder de previsão.

Os valores de Ácido Eicosanóico do azeite encontram-se entre 0,21 e 0,35%, encontram-se todos dentro da gama (inferior a 0,4%).

Contribuições factoriais ponderadas (LV1)

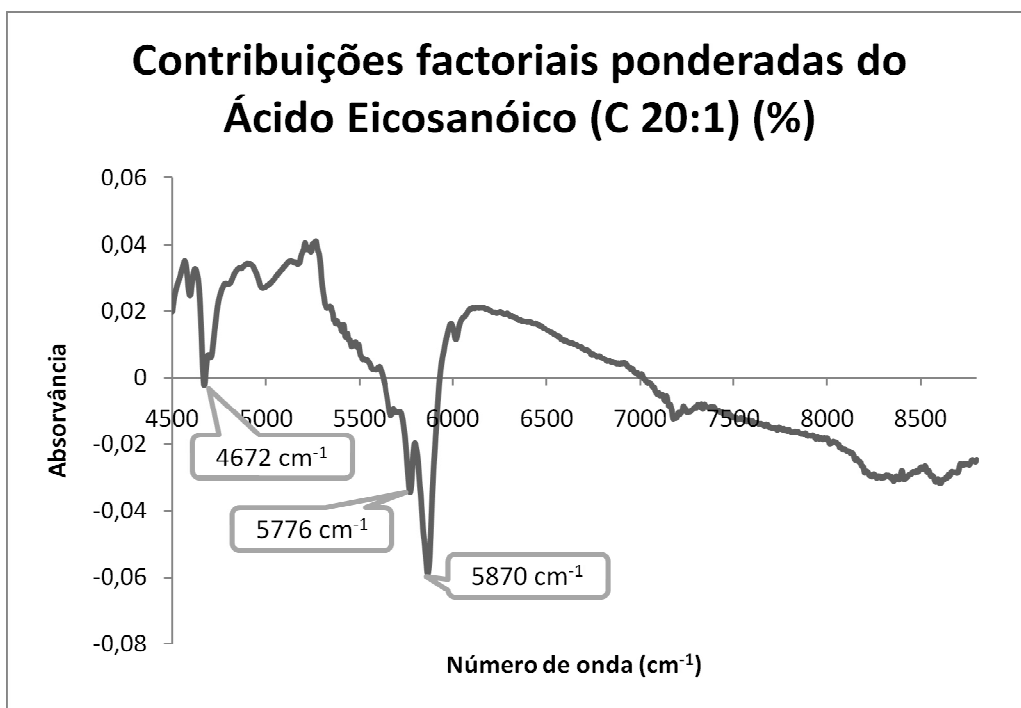


Figura 75: Contribuições factoriais ponderadas do Ácido Eicosanóico

Relativamente à análise das contribuições factoriais ponderadas da primeira variável latente do azeite, verifica-se que as bandas de maior intensidade correspondem aos valores de 5870cm⁻¹, 5776 cm⁻¹ e 4672 cm⁻¹.

As região da banda de absorção de 5870cm⁻¹ e a de 5776 cm⁻¹ devem-se à absorção do grupo –CH₂– (primeiro sobretom CH) e a região de 4672 cm⁻¹ deve-se à absorção do grupo –HC=CH– (alongamento CH + alongamento C=C).

Analisando a estrutura do ácido eicosanóico, pode-se justificar a absorção do grupo –CH₂– e do grupo –HC=CH–.

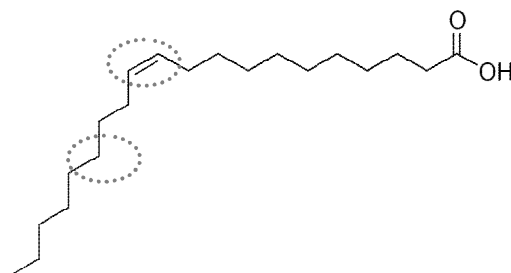


Figura 76: Estrutura química do ácido eicosanóico com algumas bandas de absorção assinaladas.

4.24. Quantificação do Ácido Beénico

Relação entre os valores observados e previstos

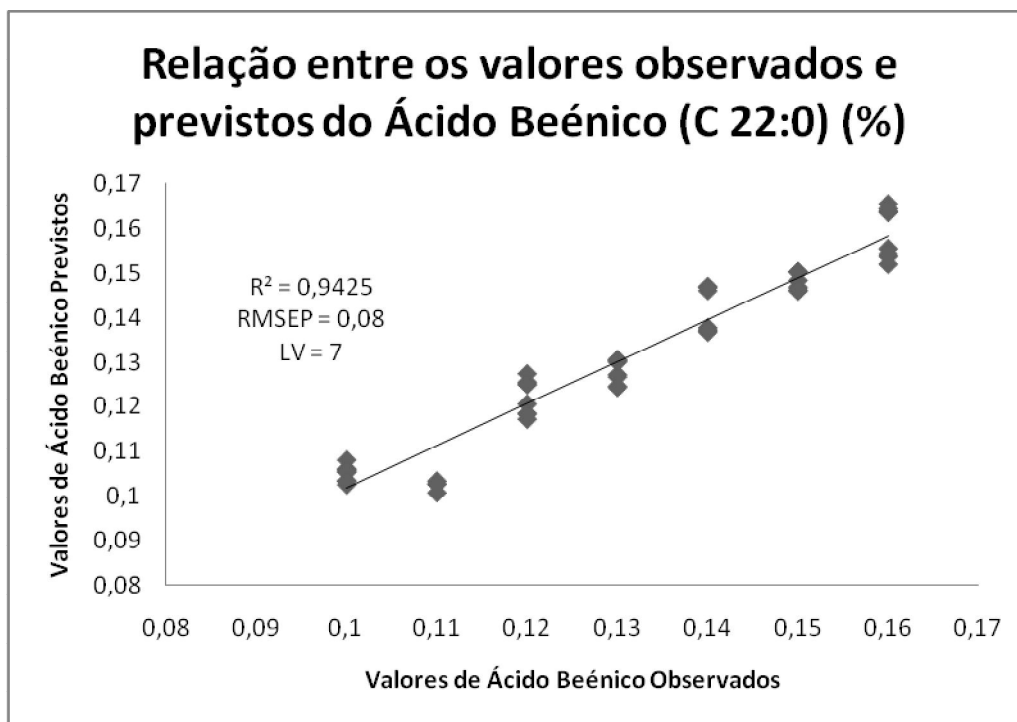


Figura 77: Relação entre os valores observados e previstos do Ácido Beénico

Analisando o gráfico da figura 60, verifica-se que o coeficiente de determinação do Ácido Beénico, R^2 , é de 0,9425 e que o erro, RMSEP, atribuído a este parâmetro é de 0,08%, o que indica que o modelo tem um algum poder de previsão.

Os valores de Ácido Beénico do azeite encontram-se entre 0,10% e 0,17%. Como todos os valores se encontram inferiores a 0,2%, não existe nenhuma amostra atípica.

Contribuições factoriais ponderadas (LV1)

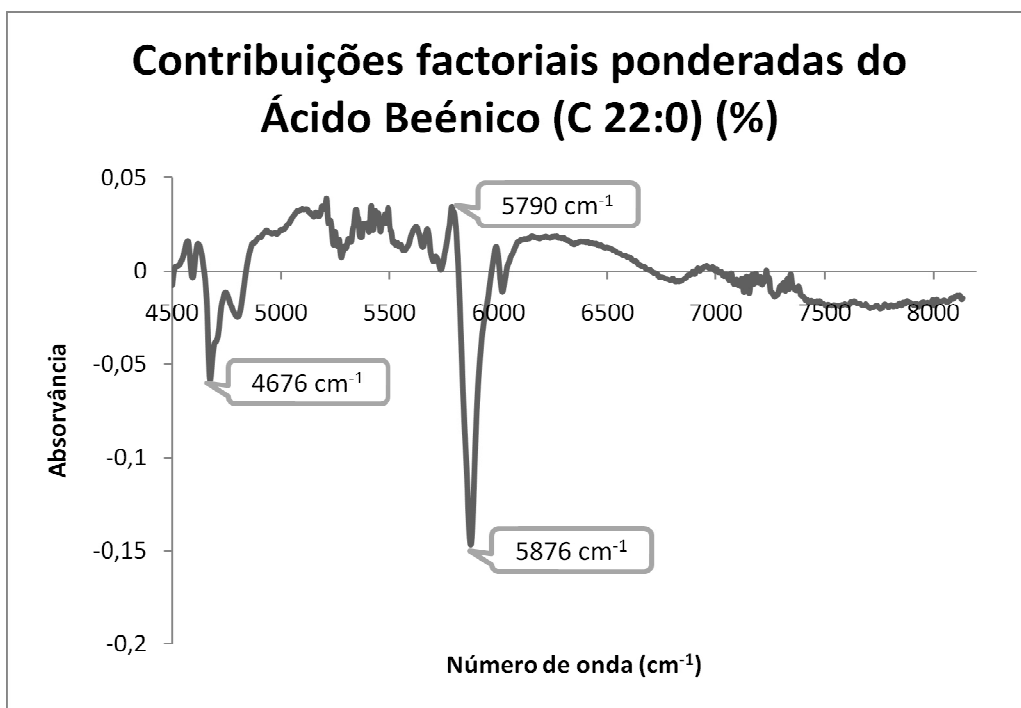


Figura 78: Contribuições factoriais ponderadas do Ácido Beénico

Relativamente à análise das contribuições factoriais ponderadas da primeira variável latente do azeite, que se encontra na figura 61, verifica-se que as bandas de maior intensidade correspondem aos valores de 5876 cm⁻¹, 5790 cm⁻¹ e 4676 cm⁻¹.

As região da banda de absorção de 5876 cm⁻¹ e a de 5790 cm⁻¹ devem-se à absorção do grupo -CH₂- (primeiro sobretudo CH) e a região de 4676 cm⁻¹ deve-se à absorção do grupo -HC=CH- (alongamento CH + alongamento C=C).

Analisando a estrutura do ácido beénico, pode-se apenas justificar a absorção do grupo -CH₂-, uma vez que este ácido não apresenta dupla ligações.

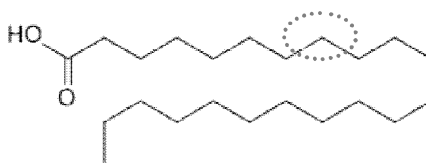


Figura 79: Estrutura química do ácido beénico com algumas bandas de absorção assinaladas.

4.25. Quantificação do Ácido Lignocérico

Relação entre os valores observados e previstos

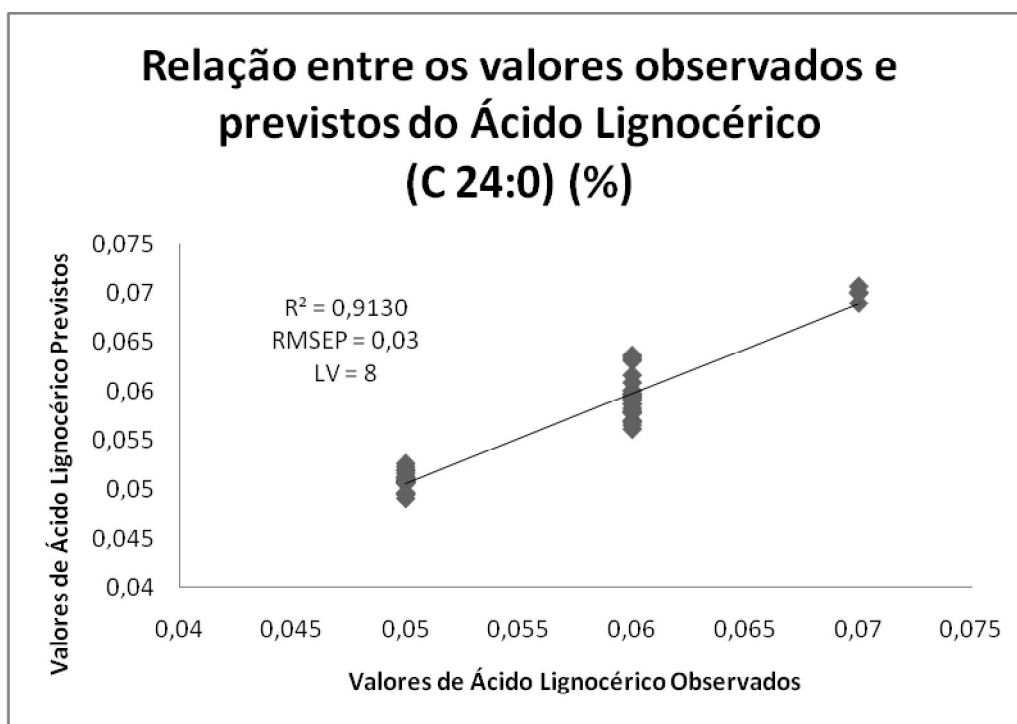


Figura 80: Relação entre os valores observados e previstos do Ácido Lignocérico

Através da análise do gráfico da figura 80, verifica-se que o coeficiente de determinação do Ácido Lignocérico, R^2 , é de 0,9501 e que o erro, RMSEP, atribuído a este parâmetro é de 1,33%, o que indica que o modelo não tem um bom poder de previsão.

Os valores de Ácido Lignocérico do azeite encontram-se entre 0,05% e 0,07%. Ou seja, são valores inferiores a 0,2%, que é o máximo permitido para este parâmetro.

Contribuições factoriais ponderadas (LV1)

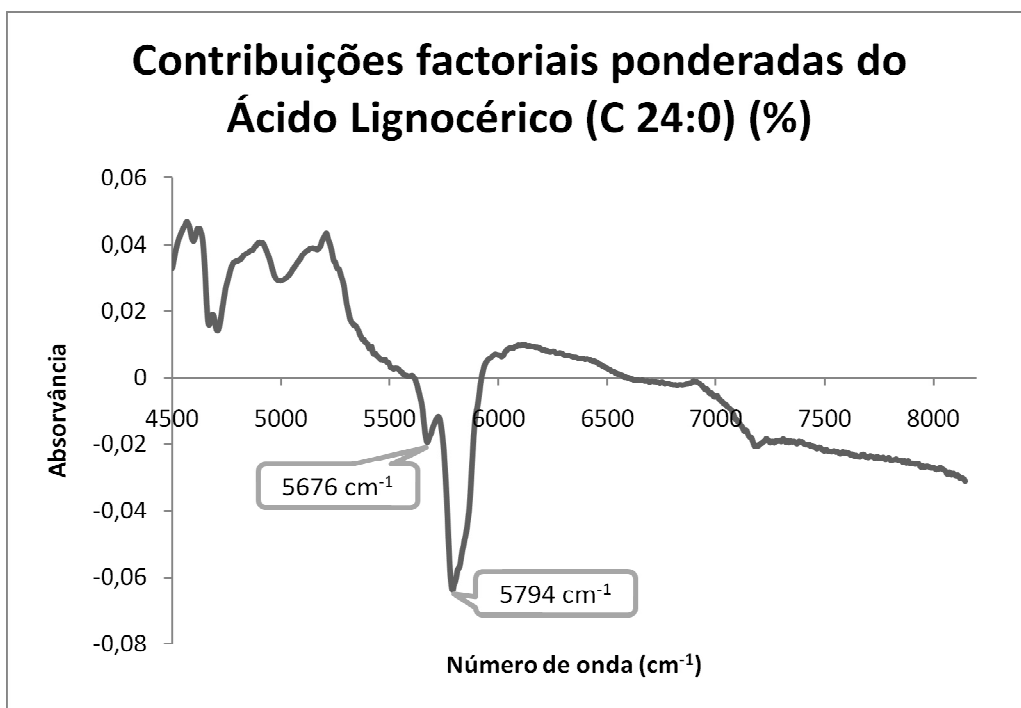


Figura 81: Contribuições factoriais ponderadas do Ácido Lignocérico

Relativamente à análise das contribuições factoriais ponderadas da primeira variável latente do azeite, verifica-se que as bandas de maior intensidade correspondem aos valores de 5794 cm⁻¹, 5676 cm⁻¹.

As região da banda de absorção de 5794 cm⁻¹ e a de 5676 cm⁻¹ devem-se à absorção do grupo –CH₂– (primeiro sobretom CH).

Tendo em conta a estrutura do ácido lignocérico, pode-se justificar a absorção do grupo –CH₂–.

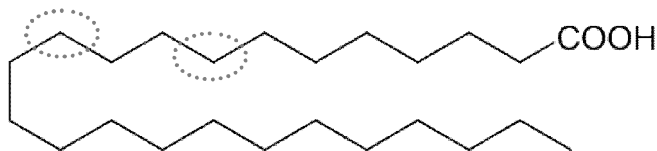


Figura 82: Estrutura química do ácido lignocérico com algumas bandas de absorção assinaladas.

4.26. Quantificação do Isómeros Transoléicos

Relação entre os valores observados e previstos

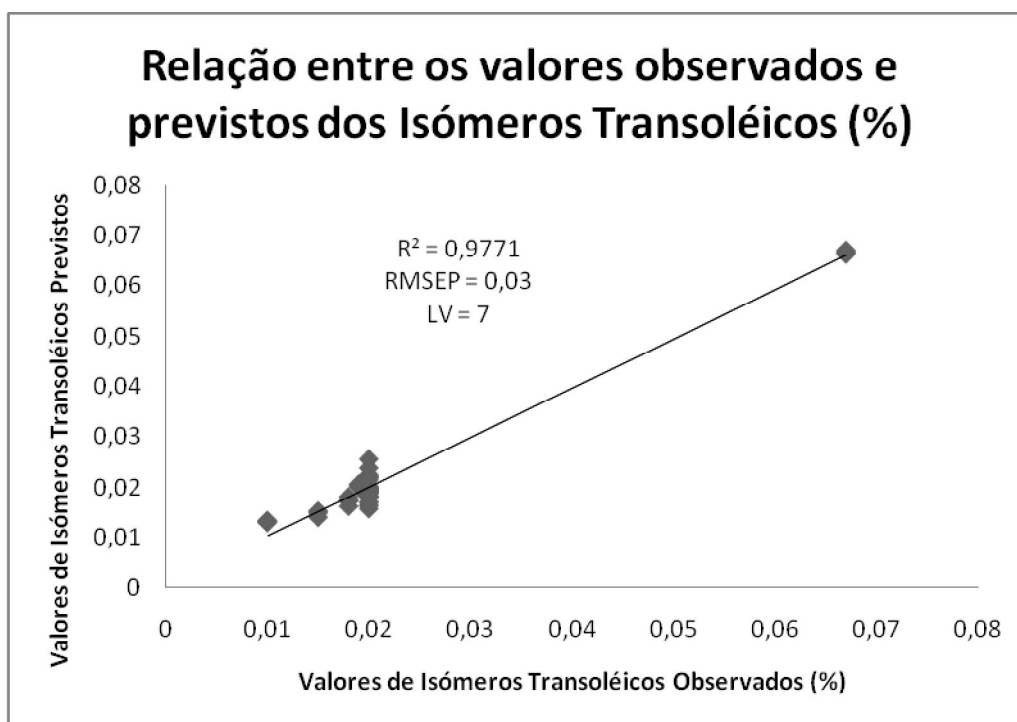


Figura 83: Relação entre os valores observados e previstos dos Isómeros Transoléicos

Através da análise do gráfico da figura 83, verifica-se que o coeficiente de determinação dos Isómeros Transoléicos, R^2 , é de 0,9771 e que o erro, RMSEP, atribuído a este parâmetro é de 0,03%.

Os valores de Isómeros Transoléicos do azeite encontram-se entre 0,01 e 0,07%. Uma vez que a gama estabelecida para este parâmetro é inferior a 0,05%, pode-se concluir que existe uma amostra atípica, logo o modelo ainda não tem um bom poder de previsão.

Contribuições factoriais ponderadas (LV1)

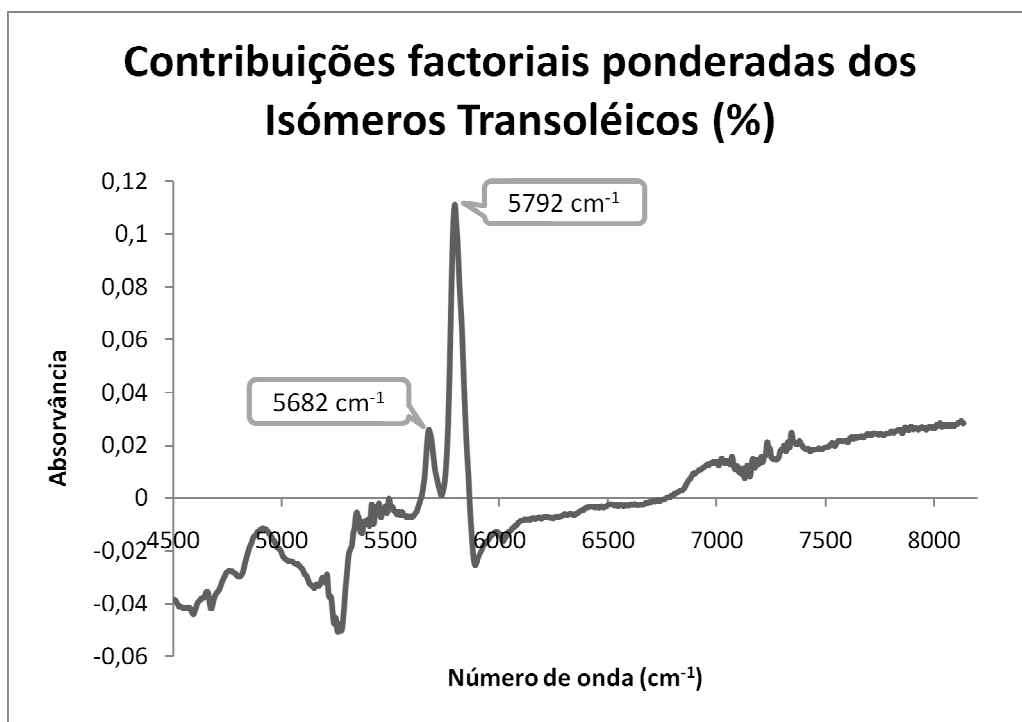


Figura 84: Contribuições factoriais ponderadas dos Isómeros Transoléicos

Relativamente à análise das contribuições factoriais ponderadas da primeira variável latente do azeite, verifica-se que as bandas de maior intensidade correspondem aos valores de 5792 cm^{-1} , 5682 cm^{-1} .

As região da banda de absorção de 5792 cm^{-1} e a de 5682 cm^{-1} devem-se à absorção do grupo $-\text{CH}_2-$ (primeiro sobretom CH).

4.27. Quantificação do Isómeros Translinoléicos + Translinolénicos

Relação entre os valores observados e previstos

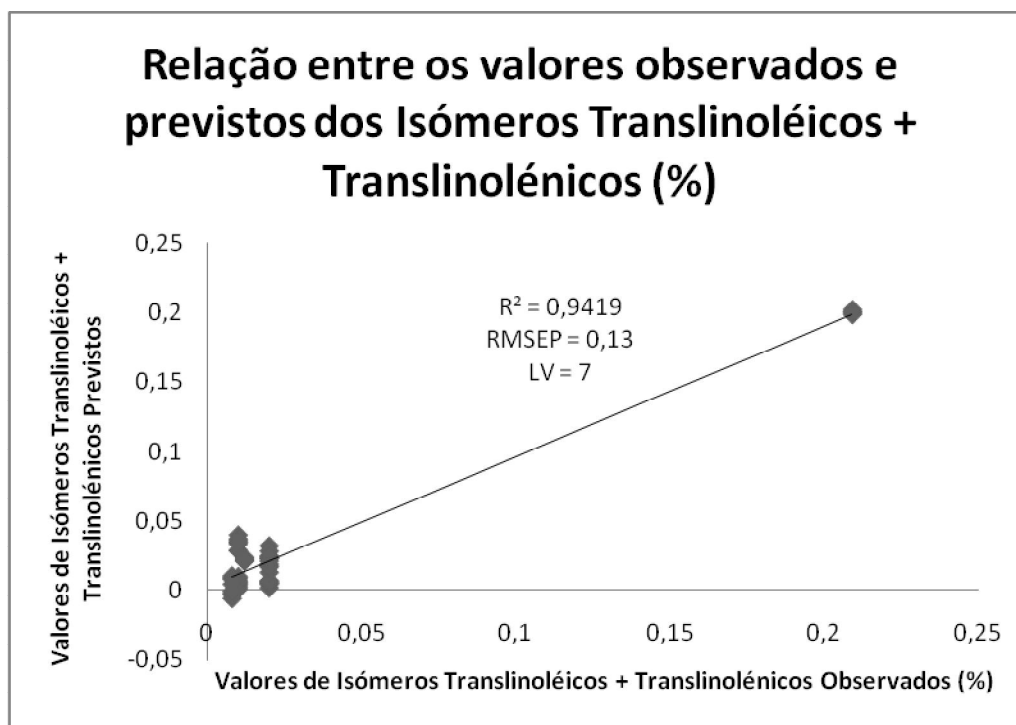


Figura 85: Relação entre os valores observados e previstos dos Isómeros Translinoléicos+Translinolénicos

Através da análise do gráfico da figura 66, verifica-se que o coeficiente de determinação dos Isómeros Translinoléicos+Translinolénicos, R^2 , é de 0,9419 e que o erro, RMSEP, atribuído a este parâmetro é de 0,13%.

Os valores dos Isómeros Translinoléicos+Translinolénicos do azeite encontram-se entre 0,01% e 0,21%. Uma vez que os valores deste parâmetro deveriam ser inferiores a 0,05%, nota-se a presença de uma amostra atípica. O modelo não tem um bom poder de previsão.

Contribuições factoriais ponderadas (LV1)

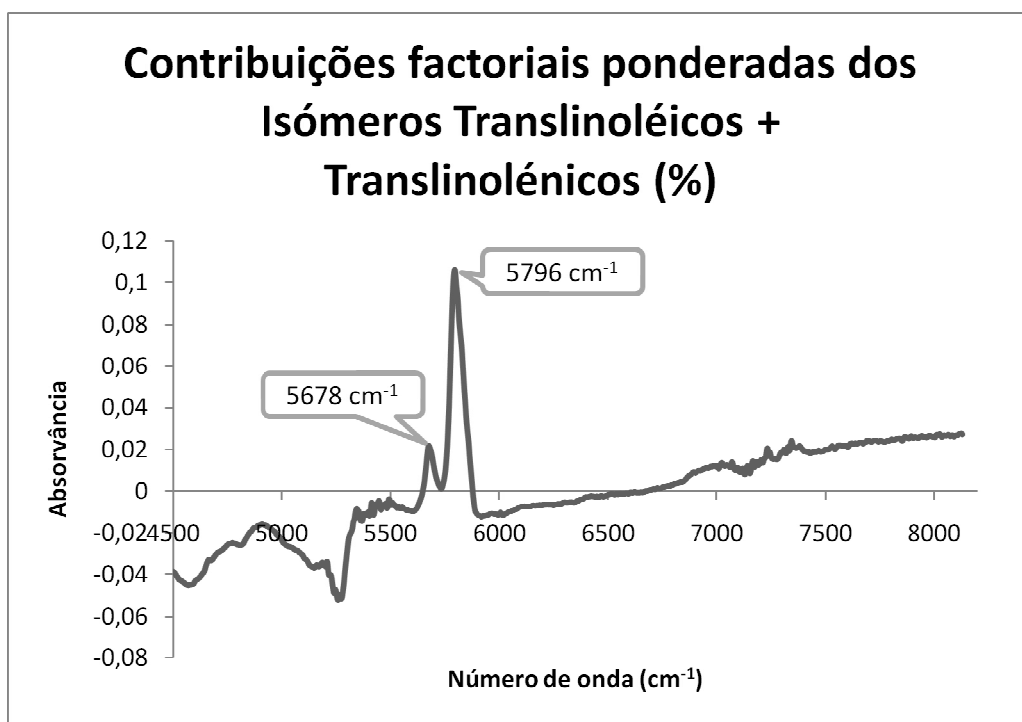


Figura 86: Contribuições factoriais ponderadas dos Isômeros Translinolêicos + Translinolênicos

Relativamente à análise das contribuições factoriais ponderadas da primeira variável latente do azeite, verifica-se que as bandas de maior intensidade correspondem aos valores de 5796 cm^{-1} , 5678 cm^{-1} .

As região da banda de absorção de 5796 cm^{-1} e a de 5678 cm^{-1} devem-se à absorção do grupo $\text{—CH}_2\text{—}$ (primeiro sobretom CH).

4. Conclusão

A utilização do PLS no tratamento de dados do NIR é uma técnica simples e fácil que pode ser usado para determinar os parâmetros de qualidade do azeite, tais como: acidez, K_{232} , K_{270} , esteróis, ácidos gordos totais e isómeros transoléicos, translinoléicos e translinolénicos a partir de amostras de diferentes tipos. Alguns dos modelos ainda não apresentam um bom poder de previsão, mas tendo em conta o reduzido número de amostras considera-se os resultados como muito promissórios. O aumento do número de amostras nos modelos melhorará certamente o poder preditivo.

O PLS-NIR fornece uma alternativa rápida para procedimentos de referência clássicos e alivia o tempo de análise de rotina de controle de qualidade, pois apenas são necessários cerca de 30 segundos por amostra e nenhum reagente químico é utilizado.

Com este trabalho concluiu-se que o NIR é uma técnica de análise de azeites muito eficiente e que apresenta inúmeras vantagens em relação a outras técnicas pois é rápido, fiável e as amostras não necessitam de pré-tratamento.

Outra grande vantagem desta técnica é que se pode analisar um grande conjunto de amostras em vez de um reduzido número de amostras que se podem fazer com os métodos clássicos. Ao realizar, quase em tempo-real todas as amostras numa linha de produção, temos um melhor controlo sobre o processo produtivo e a qualidade do azeite. Com os métodos clássicos isso é quase impossível devido ao tempo de análise e aos custos.

Uma desvantagem deste método é que como o azeite é um produto natural, está sujeito a diferenças sazonais e por isso os modelos deverão ser revistos com o passar do tempo.

Uma das formas de alterar os modelos seria, todos os anos, acrescentar amostras aos modelos de forma a modelar a variabilidade sazonal das mesmas.

Tendo em conta que alguns dos parâmetros podem ser determinados adequadamente pelo NIR, é necessário recorrer pontualmente aos métodos de referência para aferir a robustez do modelo proposto. Isto é, ao longo do tempo e para validar os modelos, temos de introduzir mais amostras no modelo, e fazer análises com os métodos clássicos para verificar se há desvios.

Uma maneira de verificar se os modelos sofreram alterações ou não é através de cartas de controlo.

5. Referências Bibliográficas

[1] Codex Alimentarius – FAO/WHO, Codex standard for olive oil and olive pomace oil (CODEX STAN 33-1981, Rev.2-2003)

[2] Belitz, H.D., Grosch, W.; (1986); **Food Chemistry**; Springer-Verlag; p.128-198 e 472-493

[3] Aparício, R.; Harwood, J. (2003); **Manual del aceite de oliva**; Mundi-prensa; pág.30-60

[4] Ribeiro, L. H.; (2005); **Caracterização química do aroma de azeites virgens com atributos positivos e negativos**; *Dissertação para obtenção do grau de doutor*; Lisboa – Retirado da Internet em Junho de 2010

[5] International Olive Oil Council (IOOC) Trade Standard for Olive Oil and Olive-Pomace Oils – Retirado da Internet em Junho de 2010

[6] Custódio, T. A. S.; (2009); **Azeites extra-virgem comerciais: composição em compostos voláteis e relação com parâmetros químicos de qualidade**; *Dissertação para obtenção do grau de mestre*; Porto – Retirado da Internet em Junho de 2010

[7] Woodcock T., Downey G., O'Donnell C.; (2008); **Confirmation of Declared Provenance of European Extra Virgin Olive Oil Samples by NIR Spectroscopy**; *Jornal of Agricultural and Food Chemistry*; 56 (23); p. 11520–11525

[8] Cunha, S. C. S.; (2007); **Autenticidade e Segurança de Azeites e Azeitonas**; *Dissertação para obtenção do grau de doutor*; Porto – Retirado da Internet em Junho de 2010

[9] Boskou, D.; (2007); **More on Mediterranean Diets** (World Review of Nutrition and Dietetics, Vol. 97); Ed. Simopoulos, A. P. & Visioli, F.; *Karge, Basel*, p.180-181

[10] Trichopoulou, A.; Lagiou, P.; (2001).; **The Mediterranean Diet: Definition, Epidemiological Aspects, and Current Patterns**; In *The Mediterranean Diet*:

Constituents and Health Promotion. Ed. Matalas, A.-L.; Zampelas, A.; Stavrinou, V.; Wolinsky, I.; *CRC Press* p.53-66

[11] Trichopoulou, A.; Lagiou, P.; Papas, A. M.; (1999); **Mediterranean Diet: Are Antioxidants Central to its Benefits?** In Antioxidant Status, Diet, Nutrition, and Health. Ed. Papas, A. M.; *CRC Press* p.107-118

[12] Granados, J. A.; (2000); **Enciclopedia del Aceite de Oliva, Historia y Leyendas del aceite y la Aceituna**; *Editorial Planeta*

[13] Mensink, R. P.; Katan, M. B.; (1989); **Effect of Dietary Trans Fatty Acids on High-Density and Low-Density Lipoprotein Cholesterol Levels in Healthy Subjects**; *The New England Journal of Medicine*; 323 (7) p. 439-445

[14] March, L. & Ríos, A. (1989); **El Libro del Aceite y la Aceituna**; *Alianza Editorial, S. A*

[15] Dias, S.M.C.; (2009); **Pasta de Azeite versus Azeite Virgem Extra**; *Dissertação para obtenção do grau de mestre*; Lisboa – Retirado da Internet em Junho de 2010

[16] Jornal Oficial da União Europeia, Regulamento (CE) N.º 702/2007 da comissão de 21 de Junho de 2007, que altera o Regulamento (CEE) n.º 2568/91 relativo às características dos azeites e dos óleos de bagaço de azeitona, bem como os métodos de análise relacionados

[17] Kiritsakis, A.; Christe, W. W.; (2000); **Analysis of Edible Oils**; In Handbook of Olive Oil – Analysis and properties; Ed. Harwood J.; Aparicio R.; *Aspen Publishers*

[18] Halpern, M. J.; (1997); **Bioquímica**; *Lidel*

[19] Dewick, P. M.; (2002); **Medicinal natural products: a biosynthetic approach**; John Wiley & Sons, *LTD*

[20] Akoh, C.C.; (1998); **Food lipids: chemistry, nutrition and biotechnology**; *Marcel Dekker*, New York, p. 96-111

[21] COI – International Olive Council (November 2008); **Trade Standard Applying to Olive Oils and Olivepomace Oils**; COI / T.15 / NC no. 3 / Rev. 3 – Retirado da Internet em Junho de 2010

[22] Becker, Denise, Gonçalves, Lireny, Fernandes, Gabriela (2005); **Quantificação de fitosteróis em azeite de oliva importados e disponíveis no comércio de Campinas utilizando cromatografia em fase gasosa**, *Brazilian Journal of Food Technology*, v.8, n.3, p. 190-199

[23] Aued-Pimentel, S.; Takemoto, E.; Minazzi-Rodrigues, R. S.; Badolato, E. S. G. (2002); **Azeite de oliva: incidência de adulterações entre os anos de 1993 a 2000**; *Revista do Instituto Adolfo Lutz*, 61 (2) p. 69-75

[24] Regulamento (CE) N.º 2568/91 da comissão de 11 de Julho de 1991, relativo às características dos azeites e dos óleos de bagaço de azeitona, bem como os métodos de análise relacionados

[25] Marquez, A.J.; Díaz, A.M.; Reguera, M.I.P.; (2005), **Using optical NIR sensor for on-line virgin olive oils characterization**, *Sensors and Actuators B Chemical*, vol.107, p.64-68

[26] Armenta, S.; Garrigues, S.; Guardia, M.; (2007), **Determination of edible oil parameters by near infrared spectrometry**, *Analytica Chimica Acta*, vol.596, n.2, p.330-337

[27] Kellner, R.; Mermet, J-M.; Otto, M.; Valcarcel, M.; Widmer, M. (1998); **Analytical Chemistry: A Modern Approach to Analytical Science**, 2nd Edition, Wiley-VCH

[28] G. Lachenal, R. Buchet, Y. Ren, Y. Ozaki (2000), **Investigation of the curing by 2D FTIR-NIR**, *AIP*; p. 503, 223

[29] Christy, A.A.; Kasemsumran, S.; Du, Y.; Ozaki Y.; (2004); **The Detection and Quantification of Adulteration in Olive Oil by Near-Infrared Spectroscopy and Chemometrics**; *Analytical Sciences*; vol. 20, n.6, p. 935-940

[30] Costa, Ana M. S. (2007); **Desenvolvimento de metodologia instrumental rápida para a análise de alimentos**; *Dissertação apresentada à Universidade de Aveiro para a obtenção de grau de Mestre em Química e Qualidade dos Alimentos*

[31] Rocha, W. (2007); **Utilização do sinal analítico líquido para validação de modelos de calibração multivariada através do cálculo de figuras de**

mérito e de cartas de controle; *Dissertação de Mestrado*; Campinas – Retirado da Internet em Julho de 2010

[32] Rufino, J.L. (2004); **Desenvolvimento de metodologias analíticas para controle de qualidade de fármacos, utilizando-se técnicas espectroscópicas (NIR e MID) e processos de calibração multivariada (PLS);** *Dissertação apresentada como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre em Química*; Paraná – Retirado da Internet em Julho de 2010

[33] Ferreira, M. M. C., Antunes, A. M., Melgo, M. S., Volpe, P.L.O. (1999); **Quimiometria I: Calibração Multivariada, um tutorial;** *Química Nova*, vol.22, n.5 – Retirado da Internet em Julho de 2010

[34] O. Galtier; N. Dupuya; Y. Le Dréau; D. Ollivier; C. Pinatel; J. Kister; J. Artaud; (2007); **Geographic origins and compositions of virgin olive oils determinate by chemometric analysis of NIR spectra;** *Analytica Chimica Acta*; 595, p. 136-144